

脳内移行性のあるメラニン凝集ホルモン1受容体拮抗薬  
の開発研究

岸野 博之



総論の部.....	1
緒言.....	1
メラニン凝集ホルモン (Melanin-Concentrating Hormone) .....	2
第1章    スピロピペリジン誘導体の MCH1R に対する阻害活性.....	5
第1節    スピロピペリジンウレア化合物の誘導化及び MCH1R に対する阻害活性、選択性の構造活性相関.....	6
第2節    スピロピペリジンアミド化合物の誘導化と MCH1R に対する阻害活性、選択性及び P-gp 基質性の構造活性相関 .....	7
第3節    ピラゾール化合物のアミド結合部位の置換基及びスピロピペリジン骨格の誘導化並びに構造活性相関.....	10
第4節    スピロピペリジン化合物の合成.....	12
第5節    小括及び考察.....	16
第2章    ベンズイミダゾール化合物の発見、誘導化及び構造活性相関.....	17
第1節    2-アミノキノリンの骨格変換及び MCH1R に対する阻害活性の構造活性相関 .....	18
第2節    2-アミノベンズイミダゾールのアミン部位の誘導化及び MCH1R に対する阻害活性の構造活性相関.....	20
第3節    2-アミノベンズイミダゾールのビアリアル部位の誘導化及び MCH1R に対する阻害活性と代謝安定性の構造活性相関.....	22
第4節    2-アミノベンズイミダゾール化合物の脳内移行性評価 .....	24
第5節    2-アミノベンズイミダゾール化合物の MCH 誘発による摂食抑制試験.....	26
第6節    2-アミノベンズイミダゾール化合物の合成.....	29
第7節    小括及び考察.....	31
第3章    イミダゾ [1,2- <i>a</i> ] ピリジン化合物の発見、誘導化及び構造活性相関 .....	32
第1節    イミダゾ [1,2- <i>a</i> ] ピリジンの2位の誘導化及び構造活性相関 .....	33
第2節    イミダゾ [1,2- <i>a</i> ] ピリジンの3位の誘導化及び構造活性相関 .....	35
第3節    イミダゾ [1,2- <i>a</i> ] ピリジンのビアリアル部位の誘導化及び構造活性相関 .....	36
第4節    イミダゾ [1,2- <i>a</i> ] ピリジン化合物の MCH 誘発による摂食抑制試験及び自発的な摂食抑制試験.....	39
第5節    イミダゾ [1,2- <i>a</i> ] ピリジン化合物の合成 .....	42
第6節    小括及び考察.....	44
総括.....	45
実験の部.....	46
Reference .....	63
論文目録.....	69
謝辞.....	70

## List of Abbreviations

Boc <sub>2</sub> O	ジ- <i>tert</i> -ブチルジカーボネート
BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O	三フッ化ホウ素 ジエチルエーテル錯体
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -ブチルリチウム
<i>tert</i> -BuOK	<i>tert</i> -ブトキシカリウム
CCl <sub>4</sub>	四塩化炭素
CH <sub>3</sub> CN	アセトニトリル
CHCl <sub>3</sub>	クロロホルム
CsF	フッ化セシウム
DIBAL	水素化ジイソブチルアルミニウム
DIEA	<i>N,N</i> -ジイソプロピルエチルアミン
DIO	Diet-induced obesity (高脂肪食摂取による食事性肥満)
DMAP	<i>N,N</i> -ジメチル-4-アミノピリジン
DMC	2-クロロ-1,3-ジメチルイミダゾリニウムクロリド
DME	エチレングリコールジメチルエーテル
DMF	ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
EDCI	1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド
Et <sub>3</sub> N	トリエチルアミン
Et <sub>2</sub> O	ジエチルエーテル
EtOH	エタノール
Et <sub>3</sub> SiH	トリエチルシラン
HATU	<i>O</i> -(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)- <i>N,N,N',N'</i> -テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロリン酸塩
HBr	臭化水素
hMCH1R	ヒトのメラニン凝集ホルモン1受容体
IC <sub>50</sub>	50% Inhibitory concentration (50%阻害濃度)
iv	静脈内
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	炭酸カリウム
KI	ヨウ化カリウム
LDA	リチウムジイソプロピルアミド
LiAlH <sub>4</sub>	水素化アルミニウムリチウム
MCH	メラニン凝集ホルモン
MCH1R	メラニン凝集ホルモン1受容体
MCH2R	メラニン凝集ホルモン2受容体
MeMgBr	メチルマグネシウムブロミド
MeOH	メタノール
MsCl	メタンスルホニルクロライド
NaH	水素化ナトリウム
NaHCO <sub>3</sub>	炭酸水素ナトリウム
NBS	<i>N</i> -ブロモスクシンイミド
NMP	<i>N</i> -メチル-2-ピロリドン
HOBt	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物

Pd-C	パラジウム-炭素
Pd(OH) <sub>2</sub> -C	水酸化パラジウム-炭素
Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム
P-gp	Permeability glycoprotein
PK	薬物動態
SAR	構造活性相関
TBDMSCl	<i>tert</i> -ブチルジメチルクロロシラン
TMSCN	トリメチルシリルシアニド
THF	テトラヒドロフラン

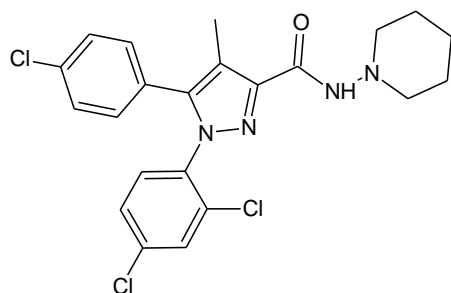
## 総論の部

### 緒言

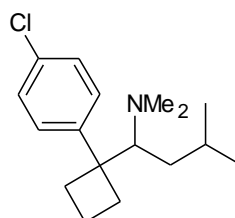
厚生労働省の人口動態統計月報年計（概数）の概況（平成25年）<sup>1)</sup>によると、日本人の死因の第1位は悪性新生物、第2位は心筋梗塞や動脈硬化などの心血管疾患、第3位は肺炎、第4位は脳卒中などの脳血管疾患であり、高血圧症<sup>2-6)</sup>、脂質異常症<sup>7-9)</sup>及び糖尿病<sup>10-15)</sup>などの生活習慣病は心血管疾患及び脳血管疾患を引き起こすリスクファクターの1つであることが明らかになってきた。近年、高血圧、脂質異常及び糖尿病に対する効果的な治療薬が開発されているが、それぞれの疾患のみを治療しただけでは必ずしも心血管疾患及び脳血管疾患の発症低下に繋がっていない場合もみられる。本邦で行われたケース・コントロール研究では、高血圧、脂質異常、糖尿病、肥満のうちいずれか2つ以上合併した場合は虚血性心疾患の発症リスクが大きくなることが報告され<sup>16)</sup>、一個人が複数のリスクファクターを持つマルチプルリスクファクター症候群という病態が重要視されるようになった。さらに肥満の病態研究から、内臓の周りに脂肪が蓄積した内臓脂肪型の肥満が高血圧、脂質異常、糖尿病さらには動脈硬化性疾患の発症の根底にあることが明らかにされてきた<sup>17, 18)</sup>。このような背景から、2004年に日本高血圧学会、日本動脈硬化学会、日本糖尿病学会など8学会が合同でメタボリックシンドロームという新たな概念、診断基準を設定した。メタボリックシンドロームは内臓脂肪型の肥満に加えて、高血圧、脂質異常及び高血糖のうちいずれか2つ以上をもつ状態であり、心血管疾患及び脳血管疾患の発症リスクがさらに高くなることが報告されている<sup>19, 20)</sup>。近年のライフスタイルの変化により日本や欧米の先進国では肥満は増加傾向にある。肥満の治療・予防は運動療法や食事療法などの生活習慣の改善が第一であるが十分な効果が得られないこともある。こうした背景のもと、肥満を治療・予防する抗肥満薬の開発が創薬ターゲットの1つとして注目されている。

欧米では、これまでに脳内の中枢神経系に作用して摂食を抑制する抗肥満薬リモナバン<sup>21-23)</sup>（カンナビノイド受容体阻害剤）及びシブトラミン<sup>23-26)</sup>（セロトニン／ノルアドレナリン再取り込み阻害剤）が承認されていたが、いずれも重篤な副作用のため開発が中止された。現在、国内では

唯一マジンドール<sup>27, 28)</sup> (摂食調節中枢への直接作用及びノルアドレナリン、ドーパミン、セロトニンの再吸収阻害剤) が抗肥満薬として承認されているが、依存症の副作用があるため長期投与に制限がある。こうした背景から安全性が高い経口投与可能な抗肥満薬の開発が期待されている。

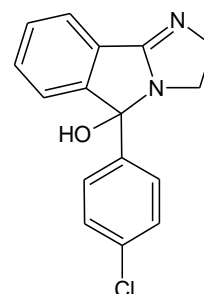


リモナバン



鏡像異性体混合物

シブトラミン

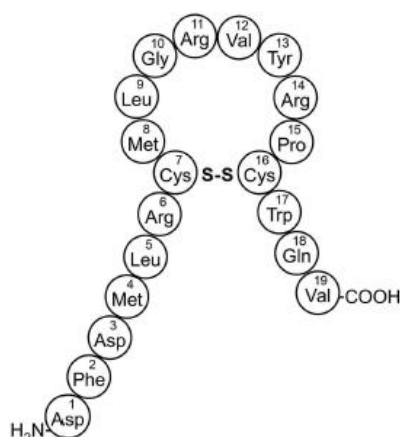


鏡像異性体混合物

マジンドール

## メラニン凝集ホルモン (Melanin-Concentrating Hormone)

脳内の視床下部は食欲やエネルギー代謝をコントロールする部位であり、摂食調節やエネルギー代謝調節には様々な脳内神経ペプチドや神経伝達物質が関与している。メラニン凝集ホルモン (Melanin-Concentrating Hormone: MCH) はサケの下垂体より初めて見い出され<sup>29)</sup>、その後ラットの視床下部から単離・同定された 19 残基のアミノ酸からなる環状の神経ペプチドである<sup>30)</sup>。哺乳類の MCH のアミノ酸構造を Figure 1 に示す<sup>31)</sup>。



**Figure 1** 哺乳類の Melanin-Concentrating Hormone のアミノ酸構造

哺乳類では、MCH を含有するニューロンの細胞体は視床下部外側野及び不確帯に局在し、その神経線維は脳内の非常に広い範囲に投射しており<sup>32, 33)</sup>、MCH は様々な中枢機能に関与している可能性が示唆されているが、ヒトでの MCH の機能は解明されていない。しかしながら、摂食抑制作用を持つホルモンであるレプチンが変異又は欠損している遺伝的肥満マウス (ob/ob マウス) では、MCH 前駆体の mRNA の発現が亢進していることが報告されている<sup>34)</sup>。また MCH 前駆体を過剰に発現したトランスジェニックマウスでは、過食を伴う肥満とインスリン抵抗性を呈し<sup>35)</sup>、一方 MCH 前駆体遺伝子を欠損したマウスでは、野生型マウスに比べて摂食量の低下や体重当たりの酸素消費量の上昇が見られ、体脂肪の減少による低体重が観察されていることから<sup>36)</sup>、マウスでは MCH が摂食及びエネルギー代謝に関与していることが示唆されている。

MCH 受容体に関しては、ヒト、サル及びイヌなどの哺乳類では 1 型 (MCH1 受容体 : MCH1R) 及び 2 型 (MCH2 受容体 : MCH2R) の 2 種類の受容体が脳内に存在し、ラット、マウス及びウサギなどのげっ歯類では MCH1R のみが脳内に存在している<sup>37-41)</sup>。MCH1R と MCH2R のアミノ酸配列の類似性は低く<sup>40)</sup>、哺乳類とげっ歯類の MCH1R のアミノ酸配列は類似していることが報告されている<sup>42)</sup>。MCH2R の機能は明らかになっていないものの、哺乳類では MCH1R 及び MCH2R ともに脳内に発現しており、MCH1R は摂食に関与する視床下部に多く発現しているのに対して、MCH2R は海馬や扁桃に発現しており視床下部での発現が低いため摂食に関与している可能性は低いことが示唆されている。

MCH をラット脳室内に急性投与すると摂食の亢進が観察され<sup>33)</sup>、慢性投与すると過食を伴って肥満を呈する<sup>43)</sup>。一方 MCH1R 欠損マウスは、野生型マウスに比べて代謝が亢進し体脂肪が減少しており高脂肪食を与えても肥満を呈しないことが観察され<sup>44)</sup>、さらに MCH1R 欠損マウスの脳室内に MCH を慢性投与しても過食や肥満を呈しないことが報告されている<sup>45)</sup>。また高脂肪食摂取により食事性肥満を呈した DIO マウス又は DIO ラットの脳室内にペプチド性又は非ペプチド性 MCH1R 拮抗薬を慢性投与すると、摂食が抑制され体重が減少することが報告されている<sup>46-48)</sup>。これらの非臨床試験の結果から、MCH は MCH1R を介して摂食及びエネルギー代謝を調節していることが示唆され<sup>49-51)</sup>、MCH 及び MCH1R は肥満に深く関与していると考えられることか

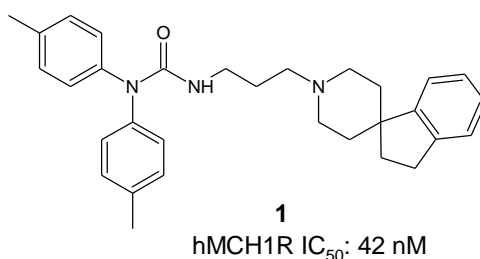


ら、新たな抗肥満薬の開発を目的として MCH1R 拮抗薬の開発研究を開始した。

第 1 章では、ハイスループットスクリーニングより発見されたスピロピペリジン誘導体の開発研究及び化合物合成について述べる。第 2 章ではベンズイミダゾール誘導体の構造活性相関及び化合物合成について、第 3 章ではイミダゾ [1,2-*a*] ピリジンの構造活性相関及び化合物合成について述べる。

## 第1章 スピロピペリジン誘導体の MCH1R に対する阻害活性

MCH1R 拮抗薬の開発研究を開始するにあたり、第一にリード化合物の選定を行った。MCH1R は7回膜貫通型の G タンパク質共役受容体 (GPCR) であることは報告されているが、タンパク質の立体構造は明らかになっていないためタンパク質立体構造に基づいたリード化合物の分子設計は困難である。また開発研究当初は MCH1R に対して親和性を示す低分子化合物の情報は報告されていなかったため、既知化合物に基づいたリード化合物の分子設計も利用することができなかった。そのため、様々なプログラムで合成された最終化合物や合成中間体を集めた低分子化合物コレクションを用いて短期間で多数の化合物を評価できるハイスループットスクリーニングを行い、リード化合物を選定した。ハイスループットスクリーニングのアッセイ方法は、ヒト MCH1R 発現細胞に試験化合物 (10 mM DMSO 溶液) 及び [ $^{125}$ I] MCH を加え、競合的阻害活性を1ポイントで測定し、高い阻害活性を示した化合物は低濃度に希釈して再度ハイスループットスクリーニングを行った。最終的に、低濃度で阻害活性を示す化合物は50%阻害濃度 (以下、IC<sub>50</sub>) を求めた。その結果、ユニークな構造を有するスピロピペリジンウレア化合物 (**1**) がヒトの MCH1R に対して42 nM の IC<sub>50</sub>を示すことが発見された。



スピロピペリジンウレア化合物 (**1**) はアドレナリン  $\alpha_{1A}$  受容体拮抗薬プログラムの中から見いだされた化合物であり<sup>52, 53</sup>、このため化合物 (**1**) は MCH1R に対して阻害活性を示したものの、アドレナリン  $\alpha_{1A}$  受容体にも IC<sub>50</sub> 540 nM の阻害活性を示すことがわかった。アドレナリン  $\alpha_{1A}$  受容体は主に膀胱平滑筋に発現しているが、血管平滑筋にも発現しており血管収縮作用に関与している。慢性投与が想定される抗肥満薬の開発では、心筋での発現は低いものの心血管系に関連す

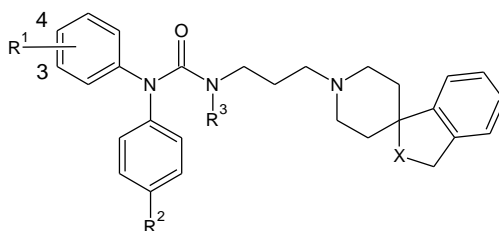
る副作用を引き起こす可能性があるため、アドレナリン  $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性が低い、MCH1R 選択的な化合物が求められる。スピロピペリジンウレア化合物 (1) をリード化合物として MCH1R に対する阻害活性及び選択性の向上を目指して誘導化を開始した。

## 第1節 スピロピペリジンウレア化合物の誘導化及び MCH1R に対する阻害活性、選択性の構造活性相関

化合物 (1) は左側のウレア骨格と右側のスピロピペリジン骨格がメチレン鎖をリンカーとして結合しているユニークな構造である。リンカーの長さを調節した結果、メチレン鎖2つ又は4つに変換した誘導体は MCH1R に対する阻害活性が低下することがわかったため、リンカーをメチレン鎖3つに固定して誘導化の検討を行った (Table 1)。左側のジアリールアミン部位はアニリン化合物とフェニルホウ酸化合物とのカップリング反応を用いて容易に合成できるため、最初にジアリールアミン部位の置換基変換を行った。その結果、フェニル基上の  $R^1$  の置換基を4-メチル基から4-フルオロ基 (2) に変換しても、MCH1R 及び  $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性に大きな変化は認められないことがわかった。一般的に電子吸引基であるフッ素原子をフェニル基に導入すると、フェニル基の代謝安定性が向上することが知られている<sup>54)</sup>。化合物 (1) の代謝解析は行っていないが今後の誘導化を見据えて、フェニル基上の  $R^1$  の置換基は代謝安定性があるフルオロ基として誘導化を検討した。フルオロ基の置換位置を4-フルオロ基から3-フルオロ基 (3) に変換しても MCH1R 及び  $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性は変わらなかった。一方、2置換の3,4-ジフルオロ基に変換したところ、 $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性は変わらないものの MCH1R に対する阻害活性が 9.6 nM に向上した (4)。左側のフェニル基上の  $R^1$  の置換基を3,4-ジフルオロ基に固定して  $R^2$ 、 $R^3$  及び X の誘導化を行った結果、ウレアの窒素原子にメチル基を導入すると MCH1R に対する阻害活性が 2.1 nM に向上した (5)。またスピロインダン骨格の物性を変化させることで  $\alpha_{1A}$  受容体に対する選択性の改善を期待して X 部位に極性を有する酸素原子を導入したところ、MCH1R に対する阻害活性が 2.1 nM と高い活性を維持しつつ  $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性が 470 nM に低下し、

$\alpha_{1A}$  受容体に対する選択性が若干改善した (6)。さらに  $R^2$  のメチル基を水素へ変換すると  $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性が 920 nM に低下したが、MCH1R に対する阻害活性も 19 nM に低下した (7)。

**Table 1** Human MCH1R and  $\alpha_{1A}$  binding activity of urea derivatives<sup>a</sup>



Compound	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	X	MCH1R <sup>b</sup> IC <sub>50</sub> (nM)	h $\alpha_{1A}$ <sup>c</sup> IC <sub>50</sub> (nM)
1	4-Methyl	Me	H	CH <sub>2</sub>	42	540
2	4-Fluoro	Me	H	CH <sub>2</sub>	54	340
3	3-Fluoro	Me	H	CH <sub>2</sub>	42	490
4	3,4-Difluoro	Me	H	CH <sub>2</sub>	9.6	350
5	3,4-Difluoro	Me	Me	CH <sub>2</sub>	2.1	230
6	3,4-Difluoro	Me	Me	O	2.1	470
7	3,4-Difluoro	H	Me	O	19	920

<sup>a</sup> The values are the means of two experiments.

<sup>b</sup> Inhibition of [<sup>125</sup>I]MCH binding to human MCH-1R in CHO cells.

<sup>c</sup> Inhibition of [<sup>3</sup>H]prazosin binding to human  $\alpha_{1A}$ -adrenoceptor in LMtk<sup>-</sup> cells.

## 第2節 スピロピペリジンアミド化合物の誘導化と MCH1R に対する阻害活性、選択性及び P-gp 基質性の構造活性相関

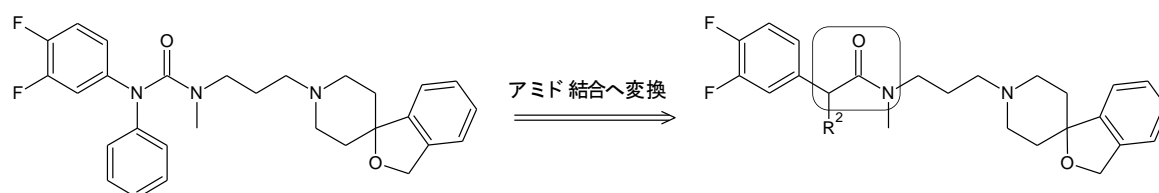
MCH1R とジアリールアミン部位の親和性増強を目的としてスピロピペリジンウレア化合物 (7) のウレア結合をアミド結合 (8) へ変換したところ、 $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性は 600 nM と同程度であるが MCH1R に対する阻害活性は 1.0 nM へ向上したため、次に結合部位をアミド結合に変換して  $\alpha$  部位の誘導化を行った (Table 2)。左側の側鎖には脂溶性が高いフェニル基が 2 つ存在し

ているため、フェニル基と同様の芳香族性の機能を保ちつつ脂溶性の改善が見込める複素環を一方のフェニル基と変換することを試みた。 $R^2$ にピラゾール (9)、トリアゾール (10、11)、テトラゾール (12) の5員環複素環を導入すると、MCH1R に対する阻害活性はそれぞれ1.7 nM、1.9 nM、2.9 nM 及び9.9 nM を示し、 $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性はそれぞれ3600 nM、1920 nM、1910 nM 及び1910 nM となり、スピロピペリジンウレア化合物と比較して MCH1R に対する選択性が大きく改善した。一方、複素環ではないが塩基性を有し脂溶性が低いピロリジン (13) に変換したところ、MCH1R に対する阻害活性が低下した。ピロリドン (14) に変換すると、5員環複素環と同程度の MCH1R に対する阻害活性を示したものの、 $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性は1000 nM となり MCH1R に対する選択性の改善は認められなかった。

MCH1R は脳内の視床下部に発現しているため、MCH1R を介した薬理作用を示すためには化合物が脳内へ移行し、かつ MCH1R 選択的に阻害活性を示すことが重要である。特に経口剤の開発を目指す場合、薬剤は消化管から吸収され肝臓の初回代謝を通過した後、循環血液へ移行して受動拡散などで血液脳関門を通過して脳内へ移行する。脳内へ移行した薬剤の多くは、脳からの排泄トランスポーターである Permeability glycoprotein (P-gp) を介して排泄されることが報告されている<sup>55, 56)</sup>。P-gp の基質性が高い化合物では十分な薬理作用を示す前に脳内から速やかに排泄されてしまうため、P-gp の基質ではない化合物の開発が求められる。スピロピペリジンアミド化合物の MCH1R に対する阻害活性及び選択性が改善したため、次にこれらの化合物の P-gp の基質性を *in vitro* で評価した。P-gp の基質性には種差があることが知られているため<sup>57)</sup>、ヒトの P-gp を発現させた LLC-PK1細胞 (MDR1) 及びマウスの P-gp を発現させた LLC-PK1細胞 (mdr1a) を用いて、3時間後における膜間の化合物濃度比 [P-gp 発現細胞の基底膜側から頂端膜側への輸送 (B to A) / 頂端膜側から基底膜側への輸送 (A to B)] を測定した<sup>58)</sup>。承認されている中枢神経系の薬剤の多くは、P-gp の膜間の化合物濃度比 (ratio) が2.5未満であることが報告されているため<sup>59)</sup>、P-gp の基質性の判断基準は、P-gp ratio が3未満の場合は P-gp の基質ではないと判定することにした。 $R^2$ にフェニル基 (8) 及びピラゾール基 (9) を導入したスピロピペリジンアミド化合物では、マウス P-gp の基質であるがヒト P-gp ratio はそれぞれ1.4、1.8でありヒト P-gp の基質ではなかつ

た。トリアゾール化合物 (**10**)、(**11**) 及びピロリドン化合物 (**14**) はヒト及びマウス P-gp ratio が3を超えており、特にピロリドン化合物 (**14**) はヒト及びマウス P-gp ratio がそれぞれ24.8及び32.9と非常に高いため、中枢神経系をターゲットとした化合物プロファイルには相応しくないことが明らかになった。

**Table 2** Human MCH1R,  $\alpha_{1A}$  binding activity and P-gp susceptibility of compounds<sup>a</sup>



Cmpd	R <sup>2</sup>	MCH1R <sup>b,c</sup> IC <sub>50</sub> (nM)	h $\alpha_{1A}$ <sup>b,d</sup> IC <sub>50</sub> (nM)	P-gp Susceptibility <sup>e,f</sup> transcellular transport ratio (B-to-A)/(A-to-B)	
				MDR1	mdr1a
<b>8</b>		1.0	600	1.4	3.7
<b>9</b>		1.7	3600	1.8	4.9
<b>10</b>		1.9	1920	4.1	4.9
<b>11</b>		2.9	1910	9.2	3.4
<b>12</b>		9.9	1910	NT	NT
<b>13</b>		125	1160	NT	NT
<b>14</b>		2.7	1000	24.8	32.9

<sup>a</sup> Compounds **8–14** were tested as racemates.

<sup>b</sup> The values are the means of two experiments.

<sup>c</sup> Inhibition of [<sup>125</sup>I]MCH binding to human MCH-1R in CHO cells.

<sup>d</sup> Inhibition of [<sup>3</sup>H]prazosin binding to human  $\alpha_{1A}$ -adrenoceptor in LMtk<sup>-</sup> cells.

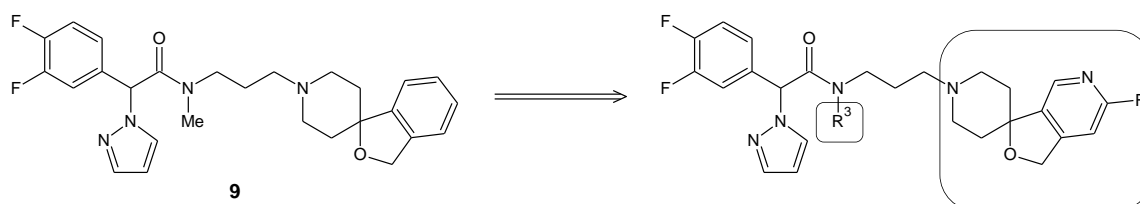
<sup>e</sup> Transcellular transport ratio ((B-to-A)/(A-to-B)) in human MDR1- and mouse mdr1a-transfected LLC-PK1 cell line.

<sup>f</sup> NT: not tested.

### 第3節 ピラゾール化合物のアミド結合部位の置換基及びスピロピペリジン骨格の誘導化並びに構造活性相関

R<sup>2</sup>にピラゾールを導入したスピロピペリジンアミド化合物 (**9**) は、MCH1R に対する高い阻害活性を有し、かつヒトの P-gp の基質ではないことが示された。MCH1R に対するより高い選択性を目指して、ピラゾール化合物 (**9**) のアミド結合部位の窒素上の置換基変換及びスピロピペリジン骨格のベンゼン環の変換を行った (Table 3)。

**Table 3** Human MCH1R,  $\alpha_{1A}$  binding activity and P-gp susceptibility of compounds **15-18**



Compound	R <sup>3</sup>	MCH1R IC <sub>50</sub> <sup>a,b</sup> (nM)	h $\alpha_{1A}$ IC <sub>50</sub> <sup>a,c</sup> (nM)	P-gp Susceptibility transcellular transport ratio <sup>d</sup> (B-to-A)/(A-to-B)		LogD
				MDR1	mdr1a	
<b>15</b> racemate	Me	1.3	>10,000	3.3	6.8	1.9
<b>16</b> (active isomer) <sup>e</sup>	Me	0.46	>10,000	5.5	16.9	1.9
<b>17</b> (active isomer) <sup>e</sup>	Et	0.15	>10,000	2.2	1.5	2.5
<b>18</b> (active isomer) <sup>e</sup>		0.09	>10,000	2.7	3.7	2.3

<sup>a</sup> The values are the means of two experiments.

<sup>b</sup> Inhibition of [<sup>125</sup>I]MCH binding to human MCH-1R in CHO cells.

<sup>c</sup> Inhibition of [<sup>3</sup>H]prazosin binding to human  $\alpha_{1A}$ -adrenoceptor in LMtk<sup>-</sup> cells.

<sup>d</sup> Transcellular transport ratio ((B-to-A)/(A-to-B)) in human MDR1- and mouse mdr1a-transfected LLC-PK1 cell line.

<sup>e</sup> Single isomer. The absolute configuration was not determined.

スピロピペリジン骨格のベンゼン環を脂溶性が低いフルオロピリジンへ変換した化合物 (**15**) は、MCH1R に対する阻害活性を維持しつつ  $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性は10  $\mu$ M 以上に低下し、

$\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性を示さなくなった。**15**はラセミ体であるため、光学活性カラムを用いて光学分割（ダイセル CHIRALCEL OD-H : Hexane/エタノール 80/20）を行ったところ、光学異性体のうち less active isomer の MCH1R に対する  $IC_{50}$ は9.1 nM であったが、active isomer (**16**) の MCH1R に対する  $IC_{50}$ は0.46 nM と非常に高い阻害活性を示すことがわかった。 $R^3$ のメチル基をエチル基に変換した化合物 (**17**) は、MCH1R に対する  $IC_{50}$ が0.15 nM となりメチル基よりも2倍以上阻害活性が向上し、フルオロエチル基に変換した化合物 (**18**) では MCH1R に対する  $IC_{50}$ が0.09 nM となり MCH1R に対する阻害活性が4倍向上した。

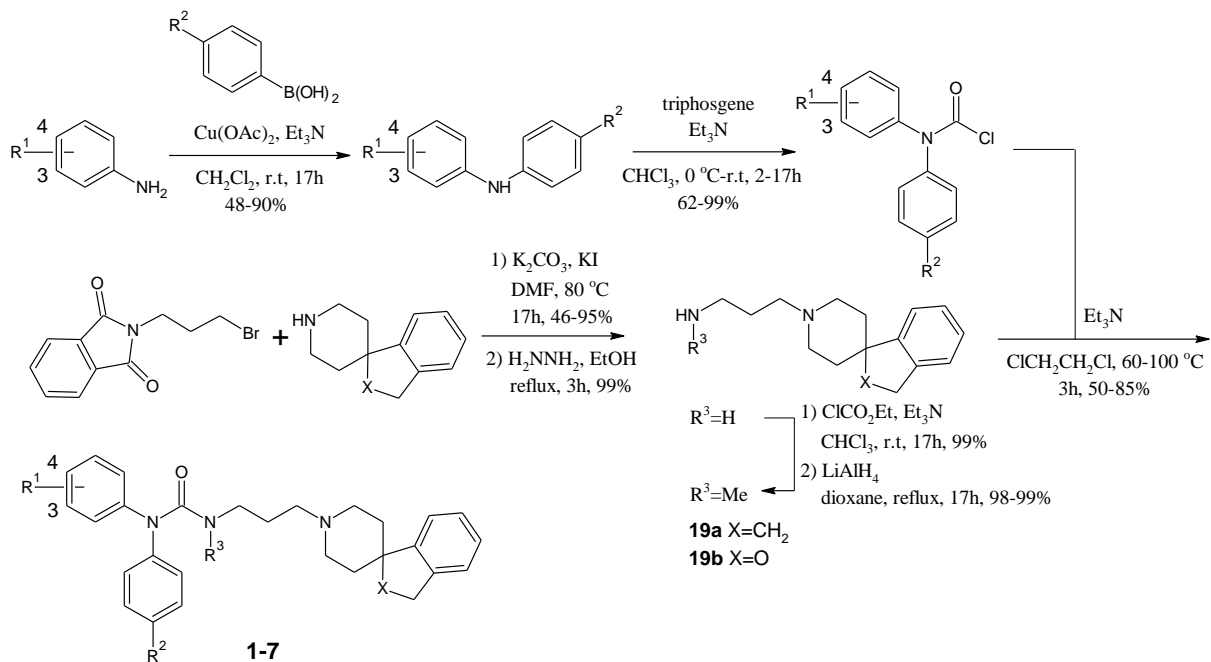
これまでの誘導化から、MCH1R に対する高い阻害活性及び選択性を有し、かつヒト P-gp の基質ではないスピロペリジン化合物 (**18**) を見い出すことができた。次に、化合物 (**18**) の経口吸収性の有無を予測するために、肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝安定性を評価した<sup>60, 61</sup>)。ヒト及びラットの肝ミクロソーム0.25 mg protein/mL の溶液に**18** (1  $\mu$ M) を加え37°Cで30分間インキュベーションした後の**18**の残存率を測定したところ、それぞれ12%及び31%の残存率であり代謝安定性が非常に低かった。他のスピロペリジン誘導体を用いて同様の代謝安定性を評価したところ、いずれの誘導体も代謝安定性が低いことがわかった。一般的に脂溶性 (logD) が高い化合物は代謝酵素によって脂溶性が低くなるよう代謝される傾向があるが、スピロペリジン化合物 (**18**) の logD は2.3であり脂溶性は低いことから、脂溶性に起因して代謝されているとは考えにくい。化合物 (**18**) の構造上、肝ミクロソーム酵素に代謝されやすい構造を有している可能性が示唆された。**18**は代謝安定性が低いために経口吸収性が低く、経口投与によるラットを用いた薬物動態試験が実施できなかった。また、**18**を用いて iv 投与によるラットの薬物動態試験 (1 mg/kg) を実施した結果、半減期は1.3 hr、クリアランスは102 mL/min/kg と非常に高く、血液中から速やかに排泄されることがわかり、*in vivo* 薬効評価が可能となる血中濃度を維持することは困難であった。スピロペリジン化合物 (**1**) をリード化合物として誘導化を行った結果、MCH1R に対する高い阻害活性及び選択性を有し、かつヒト P-gp の基質ではないスピロペリジンアミド化合物 (**18**) を見い出すことができたものの、化合物 (**18**) を用いた *in vivo* 薬効評価を実施することができなかった。



#### 第4節 スピロペリジン化合物の合成

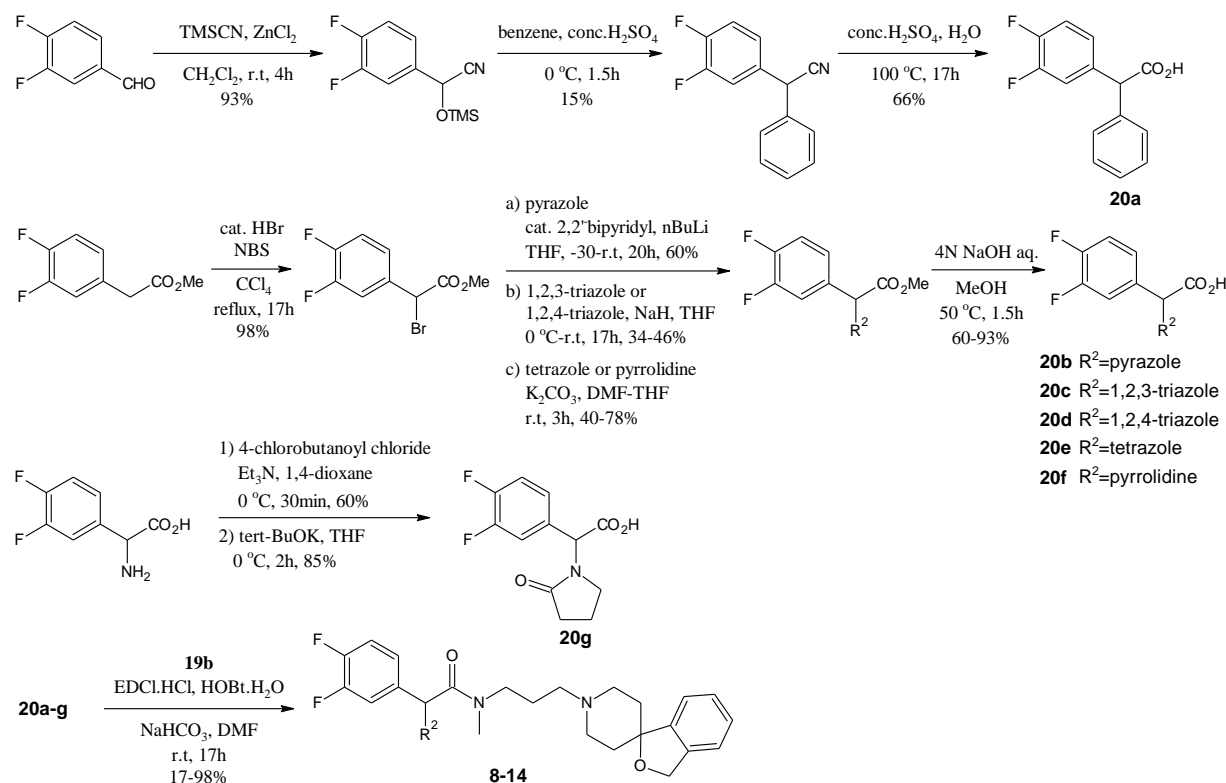
スピロピペリジンウレア化合物 (**1-7**) の合成法を Scheme 1 に示す。3,4-置換アニリンとパラ置換フェニルボロン酸の  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液に酢酸銅と  $\text{Et}_3\text{N}$  を加え室温条件下で Ullman カップリング反応<sup>62)</sup>を行うことにより、*N*-アリールアニリン誘導体を合成した。これに  $\text{Et}_3\text{N}$  存在下、triphosgene を加えカルバモイルクロライド誘導体を合成した。一方スピロピペリジン化合物<sup>63, 64)</sup>と *N*-(3-bromopropyl)phthalimide の DMF 溶液を  $80^\circ\text{C}$  で加熱することにより、スピロピペリジンの *N* 上にメチレン鎖3つのリンカーを導入した。この化合物の  $\text{EtOH}$  溶液にヒドラジンを加え加熱することによりフタルイミドを脱保護した後、ethyl chloroformate と反応させ、次いで還元することにより *N*-メチルアミン体 (**19a, b**) を合成した。こうして得られたアミン体とカルバモイルクロライド誘導体の1,2-ジクロロエタン溶液中  $\text{Et}_3\text{N}$  を加え加熱することにより、スピロピペリジンウレア化合物 (**1-7**) を合成した。

**Scheme 1** Synthesis of spiropiperidine urea derivatives



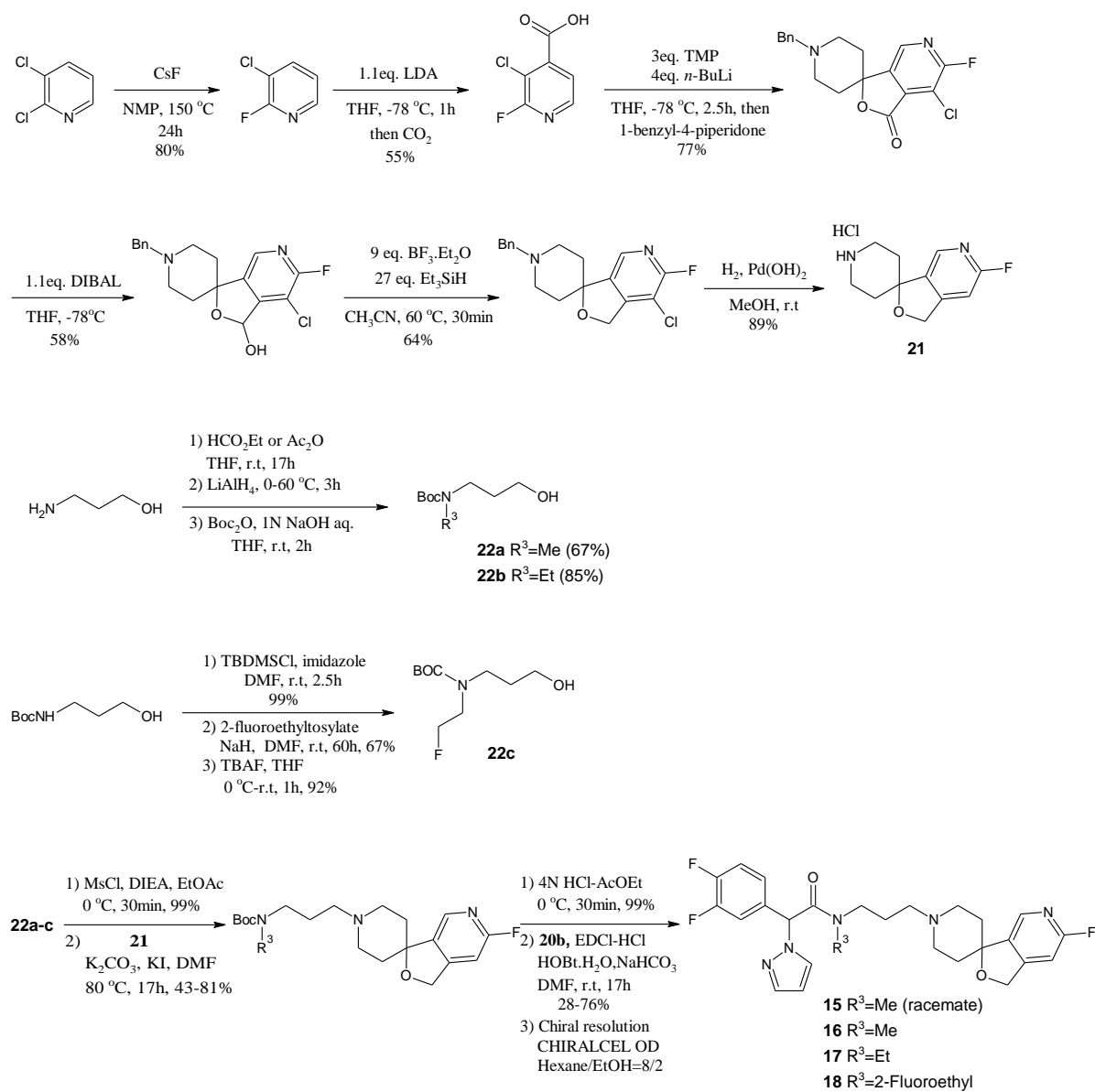
スピロピペリジンアミド化合物 (**8-14**) の合成法を Scheme 2 に示す。まず 3,4-difluorobenzaldehyde に塩化亜鉛と TMSCN を加え  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶液中で攪拌することによりトリメチルシリルシアノヒドリン誘導体を合成した<sup>65</sup>。次いでベンゼン溶液中濃硫酸を加え、 $0^\circ\text{C}$  で攪拌することによりフェニル基を導入し、酸性条件下でニトリルを加水分解することにより 2-(3,4-difluorophenyl)-2-phenylacetic acid (**20a**) を合成した。Methyl 2-(3,4-difluorophenyl)acetate の  $\text{CCl}_4$  溶液に NBS 及び触媒量の HBr を加え加熱攪拌することにより  $\alpha$  位ブロモ体を合成し、5員環複素環又はピロリジンと置換反応させた後、加水分解を行うことにより 2-(3,4-difluorophenyl)acetic acid の  $\alpha$  位に 5員環複素環又はピロリジンを導入した (**20b-f**)。3,4-Difluorophenylglycine のジオキサン溶液に 4-chlorobutanoyl chloride を加え  $0^\circ\text{C}$  で攪拌した後、THF 溶液中 *tert*-BuOK で環化させることにより、2-(3,4-difluorophenyl)-2-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)acetic acid (**20g**) を合成した。こうして得られたカルボン酸誘導体 (**20a-g**) とアミン体 (**19b**) の DMF 溶液中に EDCl、HOBt 及び  $\text{NaHCO}_3$  を加え縮合することにより、スピロピペリジンアミド化合物 (**8-14**) を合成した<sup>66</sup>。

**Scheme 2** Synthesis of spiroperidine amide derivatives



スピロピペリジンアミド化合物 (**15-18**) の合成法を Scheme 3に示す。2,3-Dichloropyridine の NMP 溶液に CsF を加え150℃で攪拌することにより2-fluoro-3-chloropyridine を合成した。LDA の THF 溶液に-78℃下で2-fluoro-3-chloropyridine の THF 溶液を滴下することによりピリジン4位をリチオ化し、次いでドライアイスを加えることにより3-chloro-2-fluoroisonicotinic acid を合成した。次に2,2,6,6-tetramethylpiperidide (TMP) の THF 溶液に-78℃下で *n*-BuLi を加えて30分攪拌することによりリチウムアミドを生成させた。この THF 溶液に3-chloro-2-fluoroisonicotinic acid を加え、-78℃で攪拌することにより3-chloro-2-fluoroisonicotinic acid の5位をリチオ化し、次に1-benzyl-4-piperidone を加えて室温まで昇温させた後、酸性条件下で後処理することによりスピロラクトン体を合成した。ラクトン体を-78℃下 DIBAL でラクトールへ還元した後、BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O 存在下 Et<sub>3</sub>SiH でラクトールを還元した。この化合物の MeOH 溶液に Pd(OH)<sub>2</sub>-C を加え、水素雰囲気下で攪拌してクロロ原子を還元及びピペリジンのベンジル基を脱保護することにより、spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidine]hydrochloride (**21**) を合成した<sup>66</sup>)。一方 THF 溶液中3-hydroxypropylamine と無水酢酸を反応させアシル化した後、LiAlH<sub>4</sub>で還元しアミンを Boc<sub>2</sub>O で保護することにより *tert*-butyl-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-methylcarbamate (**22a**) を合成した。無水酢酸の代わりに ethyl formate を用いて同様の反応を行うことにより *tert*-butyl-*N*-ethyl-*N*-(3-hydroxypropyl)carbamate (**22b**) を合成した。また *tert*-butyl-*N*-(3-hydroxypropyl)carbamate の水酸基を TBDMSCl で保護した後、DMF 溶液中 NaH を加え2-fluoroethyltosylate と反応させることにより N 上にフルオロエチル基を導入し、水酸基のシリルを脱保護することにより *tert*-butyl-*N*-(2-fluoroethyl) -*N*-(3-hydroxypropyl)carbamate (**22c**) を合成した。*N*-メチル、*N*-エチル及び *N*-フルオロエチル誘導体 (**22a-c**) の水酸基をメシル化した後、**21**と置換反応することによりスピロピペリジンの N 上にメチレン鎖3つのリンカーを導入した。4 N 塩酸-酢酸エチル溶液を加えて Boc を脱保護した後、カルボン酸 (**20b**)、EDCl、HOBt 及び NaHCO<sub>3</sub>を加えて縮合することによりスピロピペリジンアミド化合物 (**15**, **17 racemate**, **18 racemate**) を合成した。キラルカラム (ダイセル CHIRALCEL OD-H : ヘキサン/EtOH=80/20) を用いてスピロピペリジンアミド化合物を光学分割することにより光学活性体 (**16-18**) を得た。

**Scheme 3** Synthesis of spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidine] derivatives (**15-18**)

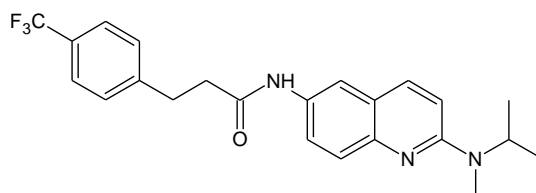


## 第5節 小括及び考察

ハイスループットスクリーニングからユニークな構造を持つスピロピペリジンウレア化合物が見い出された。MCH1R に対する阻害活性を有しているが、他の受容体 ( $\alpha_{1A}$  受容体) に対しても阻害活性を示すため、MCH1R に対する選択性の改善を試みた。結合形式をウレア結合からアミド結合へ、側鎖の置換基をフェニル基から5員環複素環へ変換することにより、MCH1R に対する阻害活性及び選択性を改善することができた。P-gp を用いた脳内排泄トランスポータを評価した結果、ヒトの P-gp の基質にはならないピラゾール化合物 (9) を見出し、さらに9のアミド結合部位の置換基及びスピロピペリジン骨格の誘導化を行うことにより、ヒトの P-gp の基質ではなく、かつ MCH1R に対する非常に高い阻害活性及び選択性を示す化合物 (18) を見い出すことができた。しかしながら、化合物 (18) の *in vitro* 代謝安定性が低く経口吸収性が認められなかったため、化合物 (18) を用いた *in vivo* 薬効評価を実施することができなかった。化合物 (18) の詳細な代謝物解析は実施していないが、類縁体の代謝物解析ではスピロピペリジン骨格部位の代謝物が多数観測されたことから、スピロピペリジン骨格が代謝酵素により代謝されやすい構造であることが示唆された。

## 第2章 ベンズイミダゾール化合物の発見、誘導化及び構造活性相関

スピロピペリジン化合物の誘導化では、MCH1R に対して高い阻害活性及び選択性を有し、かつヒト P-gp の基質ではない化合物の誘導化に成功したが、代謝安定性を改善することができなかったため、*in vivo* 薬効評価には至らなかった。新たなリード化合物の選定を目的として、ハイスループットスクリーニングの結果を再検討した。2-アミノキノリン化合物 (23) はハイスループットスクリーニングから見い出されたリード化合物を基に誘導化された化合物であり、スピロピペリジン化合物と同様に代謝安定性が低いため誘導化を中断していた。23の MCH1R に対する binding assay の IC<sub>50</sub> は4.2 nM と高い阻害活性を示し、スピロピペリジン化合物で問題となっていたアドレナリン  $\alpha_{1A}$  受容体に対する阻害活性は殆ど示さず、MCH1R に対する高い選択性を示した。また、化合物のアゴニスト/アンタゴニスト機能を評価する function assay を用いて測定したところ、23の MCH1R に対する function assay の IC<sub>50</sub>は178 nM であり、binding assay の IC<sub>50</sub>値と乖離があることがわかった。この乖離の要因の1つとして、23は脂溶性 (logD) が高いために、function assay の評価では MCH1R 以外の細胞膜上に非特異的に結合している可能性が示唆された。また、23はラットの肝ミクロソームによる残存率は9%と低く、スピロピペリジン化合物と同様に代謝安定性が低い。23の functional assay における阻害活性の低下及び代謝安定性の低下は、高い脂溶性 (logD 5.3) に起因するものであると推測し、脂溶性を改善することにより functional assay の阻害活性及び代謝安定性を向上できるのではないかと考え、23をリード化合物として誘導化を開始した。



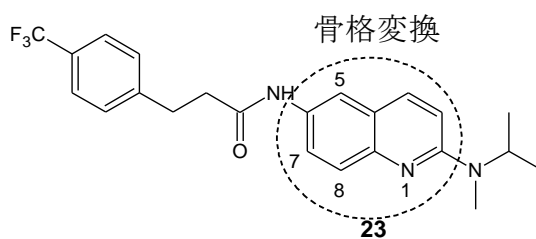
23

hMCH1R Binding assay IC<sub>50</sub>: 4.2 nM  
hMCH1R Function assay IC<sub>50</sub>: 178 nM  
logD: 5.3

## 第1節 2-アミノキノリンの骨格変換及び MCH1R に対する阻害活性の構造活性相関

脂溶性の低下を目的として、2-アミノキノリン化合物 (**23**) のイソプロピルメチルアミノ基及びジヒドロシンナミル基部位に極性基や複素環の導入を行った結果、MCH1R に対する阻害活性を示す化合物を見い出すことができたものの、functional assay の阻害活性及び代謝安定性が改善した化合物への誘導化は困難であった<sup>67, 68</sup>)。次に、2-アミノキノリン骨格の脂溶性改善を目的として、アミノキノリン骨格と同等の生物学的性質<sup>69</sup>)を有し、かつ脂溶性が低い骨格への変換を試みた (Table 4)。アミノキノリン骨格に窒素原子を導入して骨格の脂溶性低下を試みた結果、1,8-ナフチリジル骨格 (**24**)、1,7-ナフチリジル骨格 (**25**)、1,5-ナフチリジル骨格 (**26**) は MCH1R に対する阻害活性 (binding assay の IC<sub>50</sub>値) が大きく低下して、脂溶性 (logD) の低下も認められなかった。アミノキノリン骨格をベンズチアゾール骨格 (**27**) へ変換すると、MCH1R の binding assay IC<sub>50</sub>が750 nM と大きく低下した。アミノキノリン骨格とベンズチアゾール骨格は分子の大きさが類似していると考えられるため、同程度の MCH1R に対する阻害活性を示すと想定していたが、binding assay IC<sub>50</sub>値は大きく異なった。**23**及び**27**の物理的性質を精査した結果、**23**はアミノキノリン骨格の1位の窒素部位に pKa 7.1の塩基性を有しているが、**27**の pKa は3.9と塩基性が低く、両者の化合物の塩基性 (pKa) に差があることが判明した。先のスピロペリジン化合物も分子内に塩基性部位を有していることから、MCH1R に対する阻害活性を示すためには適度の塩基性が必須であるのではないかと推測した。そこで2-アミノキノリン骨格と同程度の塩基性を有する骨格を探索調査したところ、2-アミノベンズイミダゾール骨格が同程度の塩基性を有することが予測された。対応する化合物を合成して評価したところ、2-アミノベンズイミダゾール化合物 (**28a**) の pKa は7.8を示し、2-アミノキノリン化合物 (**23**) と同程度の塩基性を有することが明らかとなり、さらに MCH1R に対する binding assay の IC<sub>50</sub>は5.9 nM と高い活性を示した。また2-アミノベンズイミダゾール化合物 (**28a**) の function assay の IC<sub>50</sub>は21 nM に向上し、脂溶性(logD) も5.4に改善していることが明らかになった。

**Table 4** MCH1R binding and calculated pKa data for bioisosteric derivatives



Compound	Core structure	MCH1R Binding assay IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	MCH1R Function assay IC <sub>50</sub> (nM)	pKa <sup>b</sup>	logD <sup>c</sup>
<b>23</b>		4.2	178	7.1	5.8
<b>24</b>		365	NT	5.3	4.6
<b>25</b>		>1000	NT	—	4.4
<b>26</b>		375	NT	5.1	6.1
<b>27</b>		750	NT	3.9	5.5
<b>28a</b>		5.9	21	7.8	5.4

<sup>a</sup> The data represent means of at least two experiments.

<sup>b</sup> pKa values were calculated by the SPARC on-line calculator.

<sup>c</sup> logD values were calculated by ACD software.

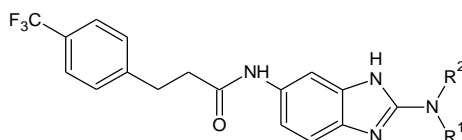
NT: Not tested.




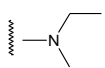
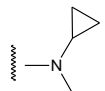
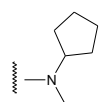
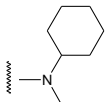
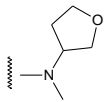
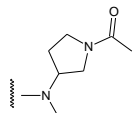
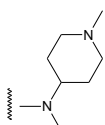
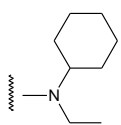
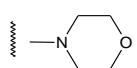
## 第2節 2-アミノベンズイミダゾールのアミン部位の誘導化及び MCH1R に対する阻害活性の構造活性相関

2-アミノキノリン化合物の骨格変換により、binding assay における MCH1R に対する阻害活性を維持しつつ、function assay における阻害活性及び脂溶性が改善された2-アミノベンズイミダゾール化合物 (**28a**) の誘導化に成功した。そこで**28a** をリード化合物として2位のアミノ基の誘導化を行い、構造活性相関を検討した (Table 5)。その結果、ジメチルアミノ基、エチルメチルアミノ基、メチルシクロプロピルアミノ基等のより立体障害が低い置換に変換すると、MCH1R に対する阻害活性が低下することが分かった (**28b**, **28c**, **28d** の binding assay IC<sub>50</sub>: 12 nM, 19 nM, 24 nM)。一方、シクロペンチルメチルアミノ基やシクロヘキシルメチル基のようなよりかさ高い置換基に変換すると、**28a** と同程度の MCH1R に対する阻害活性を示した (**28e**, **28f** の binding assay IC<sub>50</sub>: 4 nM, 6.7 nM、function assay IC<sub>50</sub>: 22 nM, 27 nM)。脂溶性の低減するためにかさ高い置換基部位に極性基を導入したテトラヒドロフラン化合物 (**28g**)、*N*-アセチルピロリジン化合物 (**28h**)、*N*-メチルピペリジン化合物 (**28i**) に変換すると、binding assay における MCH1R に対する阻害活性が低下した。またシクロヘキシルメチル基 (**28f**) のメチルをエチル基へ変換した化合物 (**28j**) は binding assay の IC<sub>50</sub>が135 nM に低下し、環状アミンであるモルホリンへ変換した化合物 (**28k**) では binding assay の IC<sub>50</sub>が428 nM と大きく低下することがわかった。

**Table 5** MCH binding and functional data for 2-aminobenzimidazole-5- carboxamides



Compound	NR <sup>1</sup> R <sup>2</sup>	MCH1R Binding assay IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	MCH1R Function assay IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)
<b>28a</b>		5.9	21

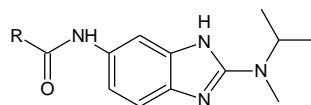
Compound	NR <sup>1</sup> R <sup>2</sup>	MCH1R Binding assay IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	MCH1R Function assay IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)
<b>28b</b>		12	NT
<b>28c</b>		19	NT
<b>28d</b>		24	NT
<b>28e</b>		4	22
<b>28f</b>		6.7	27
<b>28g</b>		27	NT
<b>28h</b>		30	NT
<b>28i</b>		23	NT
<b>28j</b>		135	NT
<b>28k</b>		428	NT

<sup>a</sup> The data represent means of at least two experiments.

NT: Not tested.

### 第3節 2-アミノベンズイミダゾールのピアリール部位の誘導化及び MCH1R に対する阻害活性と代謝安定性の構造活性相関

2位のアミノ基の誘導化を行った結果、分子的には小さいが立体的にかさ高い置換基が MCH1R に対する高い阻害活性を示すことが明らかになった。ラット肝細胞を用いて **28a** の代謝安定性を評価したところ、クリアランスは 32 mL/min/kg であり適度の代謝安定性を示した。詳細な代謝物解析は実施していないが、ジヒドロシンナミル基のエチレン部位はフレキシビリティが高く代謝を受けやすいと考えられる。より代謝安定な化合物を目指して、2位のアミノ基をイソプロピルメチル基に固定し、左側側鎖の末端フェニル基及びジヒドロシンナミル基の誘導化を試みた (Table 6)。脂溶性を低下させることにより代謝安定性が向上することを期待してジヒドロシンナミル基の末端フェニル基に窒素原子 (5-トリフルオロピリジル基) を導入したところ、MCH1R に対する binding assay の IC<sub>50</sub> が約 7 倍低下した (**29**)。ジヒドロシンナミル基のエチレン部位をリジッドなフェニル基へ変換した結果、末端が 5-トリフルオロピリジル基にもかかわらず MCH1R に対する binding assay の IC<sub>50</sub> が 3.1 nM を示し、ラット肝細胞のクリアランスは 16 mL/min/kg となり **28a** に比べて代謝安定性が向上した (**30**)。内部のフェニル基をピリジル基へ変換した化合物 (**31**) では、MCH1R に対する binding assay の IC<sub>50</sub> は 8.8 nM、ラット肝細胞のクリアランスは 12 mL/min/kg を示した。一般的にフェニル基は電子密度が高く代謝されやすく、フェニル基上の電子密度を低下させる電子吸引基を置換すると代謝安定性が向上することが知られている<sup>70, 71)</sup>。末端のフェニル基にフッ素原子を導入した化合物 (**32**) は、MCH1R に対する binding 阻害活性及び代謝安定性が向上することがわかった。末端フェニル基の結合部位をメタ位へ変換した化合物 (**33**) は MCH1R に対する binding 阻害活性が大きく低下した。内部フェニル基をピリミジン (**34**) 及びピラジン (**36**) へ変換すると代謝安定性が向上することがわかり、中でも化合物 (**36**) は MCH1R に対する binding assay の IC<sub>50</sub> が 2.7 nM を示し、かつ良好な代謝安定性を有することが明らかになった。

**Table 6** MCH1R binding and function data for 2-aminobenzimidazole-5-carboxamides

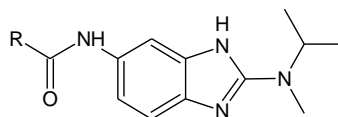
Compound	R	MCH1R Binding assay IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	Rat hepatic clearance CL <sup>b</sup> (mL/min/kg)
<b>28a</b>		5.9	32
<b>29</b>		41	NT
<b>30</b>		3.1	16
<b>31</b>		8.8	12
<b>32</b>		5.5	8
<b>33</b>		900	NT
<b>34</b>		15	9
<b>35</b>		5.4	NT
<b>36</b>		2.7	10

<sup>a</sup> The data represent means of at least two experiments.<sup>b</sup> Intrinsic clearance measured in rat hepatocytes.

NT: Not tested.

#### 第4節 2-アミノベンズイミダゾール化合物の脳内移行性評価

これまでの誘導化の結果、MCH1R に対して高い阻害活性を示し、かつ *in vitro* での代謝安定性が向上した化合物を見出すことができたため、これらの化合物の脳内移行性を評価した。脳内移行性の評価では、*in vitro* 評価系である P-gp と *in vivo* のラットを用いた脳内移行性の評価を行った (Table 7)。*In vivo* のラットを用いた脳内移行性では、試験化合物を0.5%メチルセルロース溶液に懸濁させて SD ラットに経口投与 (10 mg/kg) し、2時間後の血中及び脳内の薬物濃度を測定した。**30**は *in vitro* でのラット肝細胞のクリアランスは16 mL/min/kg で適度な代謝安定性を有していたが、ラットに**30**を経口投与した2時間後の血中濃度は0.04  $\mu\text{M}$  と非常に低く、想定外に *in vivo* での代謝安定性若しくは経口吸収性が低いことが明らかになった。**34**は**30**に比べて *in vitro* のラット肝細胞のクリアランスが低いため、代謝安定性が向上して血中濃度の改善が認められると想定したが、ラットを用いた *in vivo* の血中濃度及び脳内濃度は**30**と同様に非常に低かった。また**34**はヒト及びラットの P-gp の基質であった。**35**のラットの脳内移行性の評価では、2時間後の血中濃度が1.09  $\mu\text{M}$  と適度な血中濃度を示したが、ラット脳内の薬物濃度は0.08  $\mu\text{M}$  と非常に低いものであった。マウスとラットの種差はあるものの、**35**はマウスの P-gp の基質 (P-gp: 11) であるために脳内移行性が低かった可能性が考えられる。一方、**36**のラットの脳内移行性の評価では、2時間後の血中の薬物濃度は1.05  $\mu\text{M}$  と**35**と同等であったが、脳内の薬物濃度は0.29  $\mu\text{M}$  であり**35**に比べて3倍脳内の薬物濃度が高かった。**36**は**35**と同程度のマウスの P-gp プロファイルを有しているが、両者では受動拡散による血液脳関門の透過性に差がある又はラットの P-gp の基質性に差がある可能性があり、それらが脳内の薬物濃度に影響を与えた可能性があると考えられる。

**Table 7** Brain permeability for 2-aminobenzimidazole derivatives

Cmpd	R	MCH1R IC <sub>50</sub> (nM)	P-gp Susceptibility <sup>a</sup> transcellular transport ratio (B-to-A)/(A-to-B)		Brain /plasma level after oral administration (10mg/kg at 2 hr in SD rats)		
			MDR1	mdr1a	Plasma ( $\mu$ M)	Brain ( $\mu$ M)	B/P ratio
<b>30</b>		3.1	ND	ND	0.04	ND	ND
<b>34</b>		15	16	12	0.11	ND	ND
<b>35</b>		5.4	2.5	11	1.09	0.08	< 0.1
<b>36</b>		2.7	2.5	10	1.05 (3.9) <sup>b</sup>	0.29 (1.4) <sup>b</sup>	0.29 (0.36) <sup>b</sup>

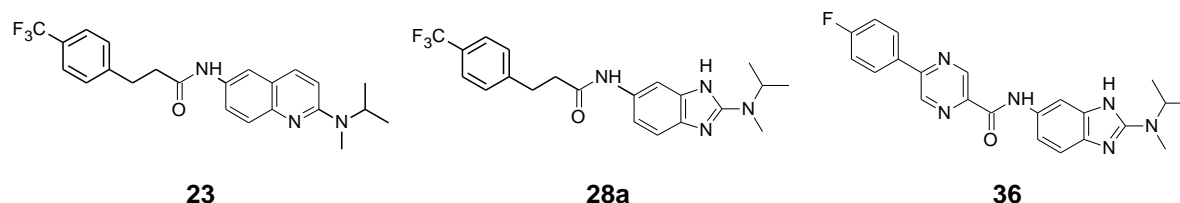
<sup>a</sup> Transcellular transport ratio ((B-to-A)/(A-to-B)) in human MDR1- and mouse mdr1a-transfected LLC-PK1 cell line.

<sup>b</sup> The rats were dosed at 30 mg/kg PO (mean values, n=3).  
ND: Not determined.

## 第5節 2-アミノベンズイミダゾール化合物の MCH 誘発による摂食抑制試験

2-アミノキノリン化合物 (**23**) をリード化合物としてアミノキノリン骨格の誘導化を実施した結果、2-ベンズイミダゾール化合物が MCH1R に対して高い阻害活性を有し、かつ代謝安定性と適度な脳内移行性を示すことを見い出した。2-アミノキノリン化合物 (**23**) 及び2-ベンズイミダゾール化合物 (**28a**、**36**) の MCH1R に対する阻害活性、ラット肝ミクロソームにおける代謝安定性、薬物動態及び脳内移行性の結果を Table 8に示す。ベンズイミダゾール化合物 (**28a**) は、アミノキノリン化合物 (**23**) と比較して同程度の MCH1R に対する binding 阻害活性を有し、かつ脂溶性が低下し、それに伴い function assay における MCH1R に対する阻害活性も向上した。ラット肝ミクロソームを用いた代謝安定性の結果、1時間後における残存率は**23**では9%、**28a** では63%であり、骨格をベンズイミダゾールへ変換することにより代謝安定性が大きく改善した。**28a** をラットに経口投与したところ経口吸収性 (F) は31%、半減期は1.3時間であり、ラットに**28a** を経口投与した2時間後の脳内薬物濃度は検出できなかった。**28a** のラット肝ミクロソームにおける代謝安定性は改善されたものの、ラットのクリアランスが82 mL/min/kg であり、化合物が速やかに排出されることが示唆された。ジヒドロシンナミル基をフェニルピラジニル基へ変換することにより MCH1R に対する阻害活性を有し、かつラット肝ミクロソームの代謝安定性が改善した2-アミノベンズイミダゾール化合物 (**36**) を見い出すことができた。**36**のラットの薬物動態試験の結果、経口吸収性 (F) は35%と**28a** と同程度であるが、半減期は約2倍の2.3時間になり、クリアランスは11 mL/min/kg となり排出速度が改善され、その結果ラットの脳内移行性試験において**36**は脳内移行性を示すことが明らかになった。

**Table 8** Summary of MCH1R affinity, microsomal stability, pharmacokinetics and brain penetrability of compounds **23**, **28a** and **36**



	<b>23</b>	<b>28a</b>	<b>36</b>
MCH1R affinity IC <sub>50</sub> (nM)			
Binding assay	4.2	5.9	2.7
Function assay	178	21	26
logD	5.8	5.4	5.1
Microsomal stability in rats			
%remaining @ 1 μM	9	63	72
PK in rats @ 3 mpk			
F (%)	NT	31	35
CL (mL/min/kg)	NT	82	11
Vdss (L/kg)	NT	11.5	1.2
Cmax (μM)	NT	0.3	1.0
T ½ (h)	NT	1.3	2.3
Brain penetrability in rats (@ 10 mpk, po, 2h)			
Plasma (μM)	NT	0.37	1.05
Brain (nmol/g)	NT	ND	0.29

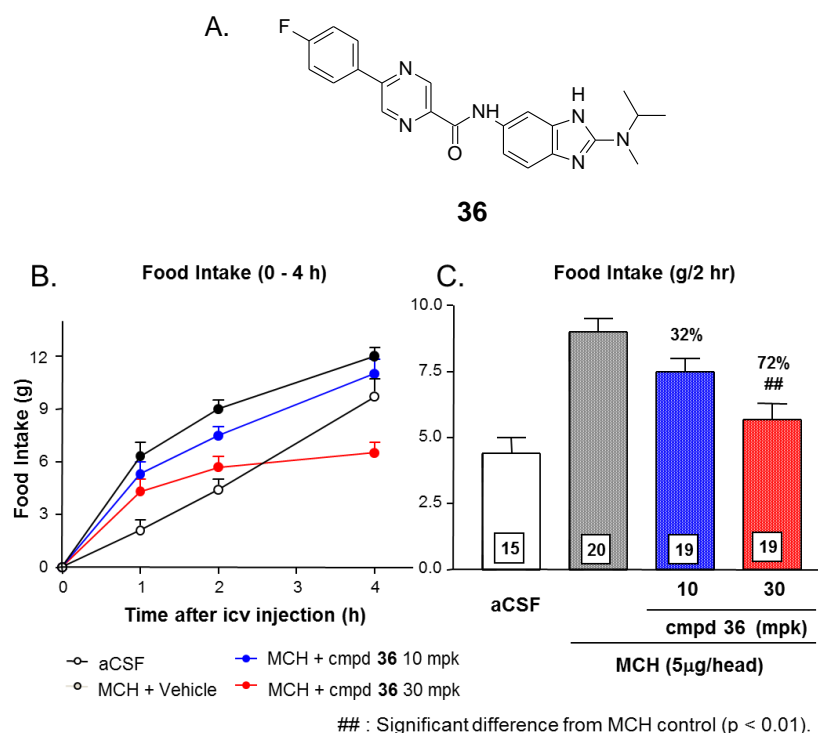
NT: Not tested

ND: Not detected

MCH1R 拮抗薬の抗肥満効果に対する Proof of Concept を検証するために、2-アミノベンズイミダゾール化合物 (**36**) を用いて *in vivo* 薬効評価試験を実施した。化合物 (**36**) を 10 mg/kg 及び 30 mg/kg でラットに経口投与し、その1時間後に MCH (5 μg) を脳室内に投与して経時的な摂食量を測定した (Figure 2)。MCH を脳内へ投与する際には、脳室内投与による手技が摂食に影響を与える可能性があるためコントロール群として MCH を含まない人工脊髄液 (aCSF) のみを脳室内へ投与した群を設けた。化合物 (**36**) を経口投与せず MCH をラット脳室内に投与した群では、aCSF 群と比較して有意に摂食量が増加し MCH の作用により摂食が亢進したことが観測された。一方、MCH を脳室内へ投与する1時間前に 10 mg/kg の **36** を経口投与した群では、MCH 脳室内投与2時間後の MCH による摂食増加量が32%抑制され、30 mg/kg の **36** を経口投与した群では MCH の脳室内投与2時間後の摂食量が72%有意に抑制され、**36** は用量依存的に MCH による摂食を抑制



することが確認された。さらに30 mg/kg の**36**を経口投与した群では、MCH 脳室内投与4時間後でも MCH による摂食増加の抑制が認められた。この MCH 誘発摂食に対する抑制試験の結果から、**36**をラットに経口投与すると、体内に速やかに吸収・分布し脳内へ移行して MCH1R 選択的に結合していることが推測され、その結果、MCH の脳室内投与による MCH-MCH1R 間の結合を阻害して MCH による摂食促進を抑制していることが示唆された。



**Figure 2** Effect of compound **36** on MCH-induced feeding response in SD rats. Values are the means±SEM of 15-20 rats groups. ## $P < 0.01$  versus vehicle/ MCH groups. A: test compound; B: food intake (g) at 1, 2 and 4 hours after MCH icv injection; C: food intake (g) at 2 hours after MCH icv injection

## 第6節 2-アミノベンズイミダゾール化合物の合成

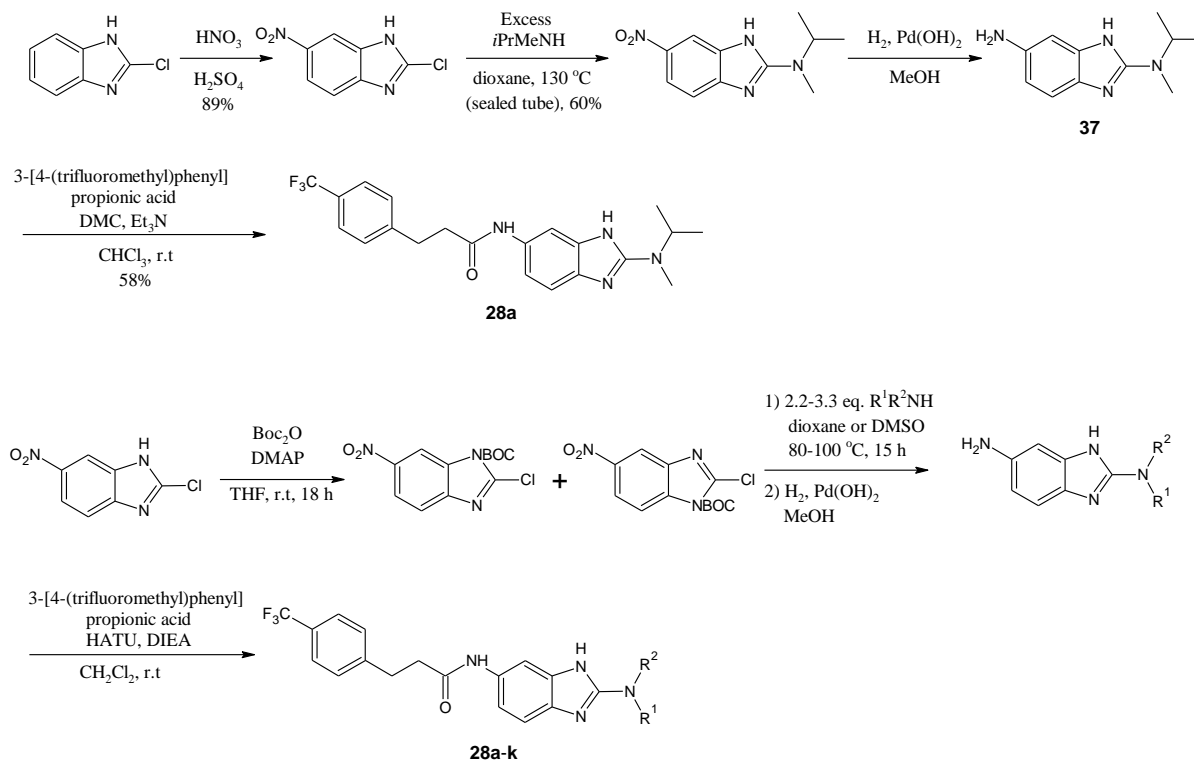
2-アミノベンズイミダゾール化合物のアミン部位の誘導化及び合成法を Scheme 4に示す。

2-Chlorobenzimidazole の濃硫酸溶液に氷冷下硝酸を加えて反応させることにより 2-Chloro-6-nitrobenzimidazole を合成した。このジオキサン溶液に過剰量の *N*-isopropylmethylamine を加え、封管中 130℃で15時間加熱することにより *N*-{2-[isopropyl(methyl)amino]-6-nitro-1*H*-benzimidazole を合成した。これを水素雰囲気下、20% Pd(OH)<sub>2</sub>-C でニトロ基を還元した後、3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propionic acid、DMC、Et<sub>3</sub>N を加え縮合することにより **28a** を合成した。

2-Chloro-6-nitrobenzimidazole と2級アミンの置換反応は、反応性が低いため高温封管下で過剰のアミンを使用する必要がある。反応条件を検討した結果、ベンズイミダゾールを Boc で保護することに温和な反応条件でかつアミンの使用量も低減できることがわかった。

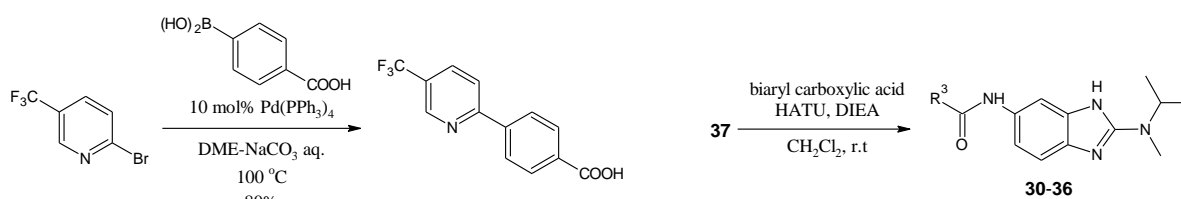
2-Chloro-6-nitrobenzimidazole の THF 溶液に Boc<sub>2</sub>O、DMPA を加え反応させることにより、ベンズイミダゾール骨格の Boc 体を合成した。この Boc 体は位置異性体の混合物であり分離が困難であるため混合物のままアミンとの置換反応に用いた。混合物のジオキサン又は DMSO 溶液に2-3当量の2級アミンを加え、80-100℃で加熱することにより、2位にアミノ基が導入されたベンズイミダゾール誘導体を合成した。同様に6位のニトロ基を還元してカルボン酸と縮合させることにより 2-アミノベンズイミダゾール化合物 (**28a-k**) を合成した。

#### Scheme 4 Synthesis of 2-aminobenzimidazole derivatives



ビアリールカルボン酸の一般的合成法を Scheme 5 に示す。2-Bromo-5-(trifluoromethyl)pyridine の DME 溶液に 4-carboxyphenylboronic acid 及び 10 mol% Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>、2 M-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水溶液を加え、100 °C で加熱することにより、4-[5-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl]benzoic acid を合成した。対応するハロゲン化アリール及びアリールボロン酸を用いて同様の Suzuki cross coupling 反応<sup>72)</sup>を行うことにより対応するビアリールカルボン酸を合成し、6-amino-N-[2-isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazole (**37**) と縮合することにより、2-アミノベンズイミダゾール化合物 (**30-36**) を合成した。

#### Scheme 5 Synthesis of biaryl carboxylic acid and 2-aminobenzimidazole-5-biarylcarboxamide derivatives



## 第7節 小括及び考察

2-アミノキノリン骨格に変わる骨格探索を行った結果、MCH1R に対する阻害活性を示す2-アミノベンズイミダゾール骨格を見い出すことができた。2-アミノベンズイミダゾール骨格は2-アミノキノリン骨格と同程度の塩基性を有しており、MCH1R に対して親和性を示すためには化合物分子内に塩基性部位を持つ必要があることが示唆された。ベンズイミダゾールの2位アミン部位の誘導化を行った結果、極性基を持つアミン体や環状アミンでは MCH1R に対する阻害活性が低下し、メチルイソプロピルアミンのような分枝鎖アミンが MCH1R に対する高い阻害活性を示すことを見い出した。2-アミノベンズイミダゾール化合物のジヒドロシンナミル基をビアリール基へ変換することにより代謝安定性が改善し、なかでもフェニルピラジンへ変換した化合物(36)は MCH1R に対する高い binding 及び function 阻害活性と優れた代謝安定性を示すことが明らかになった。36をラットに経口投与したところ適度な経口吸収性及び良好なクリアランスを示すことが判明し、マウスの P-gp の基質ではあるものの脳内移行性も認められた。36を用いて *in vivo* 薬効評価試験を実施した結果、36は用量依存的に MCH による摂食促進作用を抑制することが明らかになった。36は、経口吸収後脳内へ移行して MCH-MCH1R 間の結合を選択的に阻害することにより、摂食抑制効果を示したと考えられる。この薬効評価試験の結果は、MCH1R 拮抗薬が抗肥満薬となり得る有力なエビデンスの1つであり、Proof of Concept を立証することができたと考える。

### 第3章 イミダゾ [1,2-a] ピリジン化合物の発見、誘導化及び構造活性相関

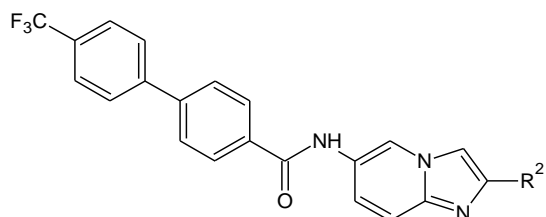
代謝安定性が改善されたベンズイミダゾール化合物を見出し、MCH1R 拮抗薬が MCH 誘発による摂食を抑制することを *in vivo* 薬効評価試験で明らかにした。実際に医薬品として開発するには、外部から脳室内へ MCH を投与した結果誘発される摂食を抑制する薬理作用（受動的摂食亢進の抑制作用）に加えて、通常的生活環境と同じ状況下で MCH1R 拮抗薬を経口投与した際の自発的な摂食抑制作用及び体重減少が認められるかが重要である。ベンズイミダゾール化合物 (36) では自発的な摂食抑制及び体重減少は認められなかった (data not shown)。この要因の1つとして十分な脳内濃度が達成できていないのではないかと仮定して、さらに高い脳内移行性を示す化合物の探索を行った。







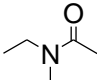
化合物の経口吸収性や体内動態を改善する誘導化のアプローチの1つとして、リピンスキーの rule of five という概念に基づいた誘導化がある。リピンスキーは市販されている医薬品及び臨床開発に進んだ医薬品候補化合物を網羅的に調査した結果、医薬品候補化合物の経口吸収性を向上させるためには、1) 化合物の分子量 < 500、2)  $\log D < 5$ 、3) 水素結合のアクセプター数 (N 原子 + O 原子の数)  $\leq 10$ 、4) 水素結合のドナー数 (NH 数 + OH 数)  $\leq 5$ 、5) 回転可能な結合数  $\leq 5$  を満たすと経口吸収性が良くなり、これらが満たせない場合には経口吸収性が低い傾向になると報告している<sup>73)</sup>。またこの概念を参考にして経口吸収後に引き続き血液脳関門を通過して脳内移行性を達成するには、より厳格な基準が必要であると考えられている<sup>74, 75)</sup>。ベンズイミダゾール化合物 (36) の rule of five のプロファイルを調べてみると、1) 化合物の分子量: 404、2) 水素結合のアクセプター数: 7、3) 水素結合のドナー数: 2、4) 回転可能な結合数: 5であり、いずれの因子も rule of five を満たしている。これらのうち、どの因子が脳内移行性に重要な影響を与えるかは明らかではないものの、これまでに誘導化を実施していない部位、すなわちベンズイミダゾール骨格を変換することにより、rule of five の構成因子を改良して脳内移行性を改善することができないか検討した。ベンズイミダゾールに新たに窒素原子や酸素原子を導入するとアクセプター数が増加して脳内移行性が低下する方へ働く可能性がある。またベンズイミダゾール化合物の

誘導化の知見から、MCH1R に対する阻害活性を示すためには分子内に塩基性を有することが必須である。これらを考慮して塩基性を有し、かつドナー数 (NH 数) を減らす構造変換が出来ないか検討した結果、イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン骨格はベンズイミダゾール骨格の生物学的等価性を示すことが報告されており<sup>76-78)</sup>、またベンズイミダゾールと同程度の塩基性 (pKa 6-7) を有していることが判明し、MCH1R に対する阻害活性を示す可能性があると考えられた。またヘテロ原子のアクセプター数は変わらずドナー数が1つ減少しているため脳内移行性の改善が見込めるのではと考え、イミダゾ [1,2-*a*] ピリジンを骨格とした新たな誘導化を試みた。

## 第1節 イミダゾ [1,2-*a*] ピリジンの2位の誘導化及び構造活性相関

2-アミノベンズイミダゾールの知見から、左側側鎖はビアリアル基であるジフェニル基に固定して、イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン骨格の2位の誘導化を行った (Table 9)。その結果、2位が無置換の化合物 (37a) は MCH1R に対する阻害活性が低く binding assay の IC<sub>50</sub>は300 nM であった。2-アミノベンズイミダゾールの2位の誘導化を参考にして、イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン骨格の2位に分枝鎖のイソプロピル基を導入した結果、MCH1R の binding assay の IC<sub>50</sub>は5.4 nM となり、MCH1R に対する高い阻害活性を示すことがわかった (37b)。2-アミノベンズイミダゾールの誘導化では立体障害が低い置換基は MCH1R に対する阻害活性を低下させる傾向であるが、イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン骨格の2位にメチル基 (37c)、ノルマルプロピル基 (37d)、シクロプロピル基 (37e)、*tert*-ブチル基 (37f) を導入すると、MCH1R の binding assay の IC<sub>50</sub>はそれぞれ4.6 nM、11 nM、5.6 nM、7.1 nM を示し、立体障害が低いアルキル基からかさ高いアルキル基まで幅広い低級アルキル基が許容されることが明らかになった。電子吸引基のエステル基 (37g) を導入すると MCH1R に対する阻害活性が消失し、極性のあるヒドロキシメチル基 (37h) では MCH1R の binding assay の IC<sub>50</sub>は130 nM となった。ヒドロキシメチル基の立体障害を大きくしていくと MCH1R に対する binding 阻害活性も向上する傾向を示し (37i、37j)、極性が高いジメチルアミノ基 (37k) やアセチルアミド基 (37l) では MCH1R の binding assay の IC<sub>50</sub>がそれぞれ83 nM と35 nM であり、MCH1R に対する阻害活性が低下した。

**Table 9** SAR of substituents at the 2-position of imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives

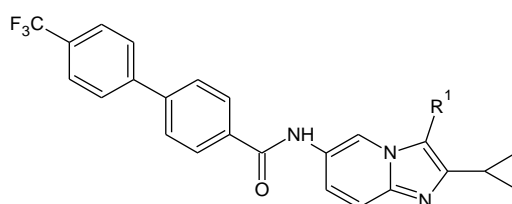
Compound	R <sup>2</sup>	MCH1R binding IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)
<b>37a</b>	H	300
<b>37b</b>	<i>i</i> Pr	5.4
<b>37c</b>	Me	4.6
<b>37d</b>	<i>n</i> Pr	11
<b>37e</b>		5.6
<b>37f</b>		7.1
<b>37g</b>	CO <sub>2</sub> Et	>1000
<b>37h</b>	 OH	130
<b>37i</b>	 OH	30
<b>37j</b>	 OH	17
<b>37k</b>	 N	83
<b>37l</b>	 N	35





<sup>a</sup> Values are means of two experiments. Compounds competed with [<sup>125</sup>I]-MCH for binding at the human MCH1R.

## 第2節 イミダゾ [1,2-*a*] ピリジンの3位の誘導化及び構造活性相関

2位をシクロプロピル基に固定してイミダゾ [1,2-*a*] ピリジン骨格の3位置換基の誘導化を行った (Table 10)。その結果、3位にメチル基を導入した化合物 (**38a**) は MCH1R の binding assay の IC<sub>50</sub>が4.8 nM であり3位無置換の化合物 (**37e**) と同等の MCH1R に対する阻害活性を示した。エチル基 (**38b**)、シクロプロピル基 (**38c**) と立体障害が高くなるにつれて MCH1R に対する阻害活性は低下した。ヒドロキシメチル基 (**38d**) を導入すると、MCH1R の binding assay の IC<sub>50</sub>は11 nM となり極性基にもかかわらず MCH1R に対する阻害活性を示した。しかしながら、アセチル基 (**38e**) や1-ヒドロキシエチル基 (**38f**) に変換すると、MCH1R に対する阻害活性が低下した。3位の置換基は立体障害を大きくしていくと MCH1R に対する阻害活性が低下し、立体的な置換基の許容範囲は非常に限られると考えられた。

**Table 10** SAR of substituents at the 3-position of imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives



Compound	R <sup>1</sup>	MCH1R binding IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)
<b>38a</b>	Me	4.8
<b>38b</b>	Et	26
<b>38c</b>		260
<b>38d</b>		11
<b>38e</b>		320
<b>38f</b>		330

<sup>a</sup> Values are means of two experiments. Compounds competed with [<sup>125</sup>I]-MCH for binding at the human MCH1R.



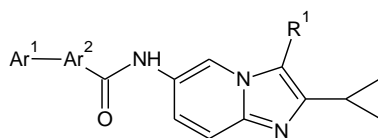
### 第3節 イミダゾ [1,2-a] ピリジンのビアリール部位の誘導化及び構造活性相関

イミダゾ [1,2-a] ピリジンの2位、3位の誘導化の結果、立体障害が小さい置換基が MCH1R に対する阻害活性を示したため、2位をシクロプロピル基、3位を無置換又はメチル基に固定して、ビアリール部位の誘導化を行った (Table 11)。末端のアリール部位に5-トリフルオロメチルピリジン基を導入した結果、3位が無置換の化合物 (39) は MCH1R の binding assay の  $IC_{50}$  が 8.2 nM を示し、3位をメチル基に変換した化合物 (40) では MCH1R の binding assay の  $IC_{50}$  が 3.5 nM となり MCH1R に対する阻害活性が2倍向上した。しかしながら logD は 5.4 と脂溶性が高く、MCH1R の function assay の  $IC_{50}$  は 1000 nM に大きく低下した。脂溶性の改善を図る目的で、末端のトリフルオロメチル基を取り除いた化合物 (42) では、MCH1R の binding assay の  $IC_{50}$  は 3.3 nM、function assay の  $IC_{50}$  は 26 nM を示し、logD も 4.1 に大きく改善することができた。3位のメチル基を取り除いた化合物 (41) は logD が 3.6 に低下したものの MCH1R の binding assay の  $IC_{50}$  が 140 nM となり、42 と比較して MCH1R に対する阻害活性が40倍低下した。化合物の脂溶性を低下し、かつ MCH1R に対する阻害活性を示すためには3位にメチル基を導入することが重要であることが示唆された。末端のアリール部位に5-クロロピリジン基を導入すると、MCH1R の binding assay の  $IC_{50}$  は 2.2 nM と高い阻害活性を示したが、logD は 4.9 と高くなり、それに伴い MCH1R に対する function 阻害活性も低下した (43)。末端アリール部位のパラ位置換基を5-フルオロピリジン基 (44)、5-メチルピリジン基 (45)、5-メトキシピリジン基 (46) などの立体障害が小さい置換基に変換した結果、MCH1R に対する binding 阻害活性を維持して logD を低下することができたが、MCH1R に対する function 阻害活性の改善は認められなかった。また立体障害が大きい5-メチルスルフォニルピリジン基 (47) では logD が 2.6 に大きく低下したが、MCH1R に対する binding 及び function 阻害活性も低下した。化合物 (40) 及び (44) の末端ピリジンの位置異性体化合物 (48) 及び (49) は、同程度の MCH1R に対する binding 阻害活性と logD を示し、さらに化合物 (49) の MCH1R に対する function assay の  $IC_{50}$  は 20 nM へ向上した。末端のアリール部位をピリミジニル基へ変換した化合物 (50) は MCH1R に対する binding 阻害活性が大きく低下したが、ピリミジニル基を内部のアリール部位へ導入した化合物 (53) は MCH1R の binding assay の  $IC_{50}$  が 6.8 nM、function assay

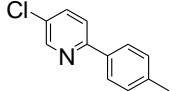
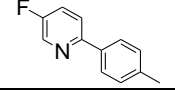
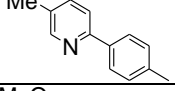
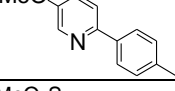
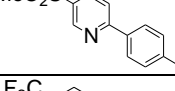
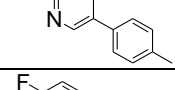
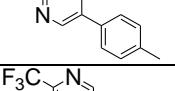
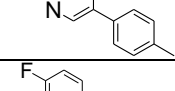
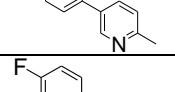
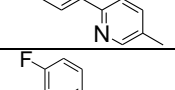
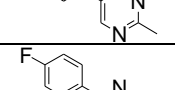
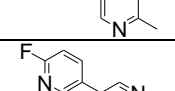
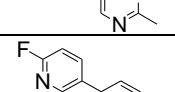
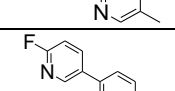
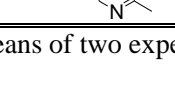
の IC<sub>50</sub>が29 nM を示し、logD も3.7へ改善した。内部のアリール部位の変換を行った結果、ピリジン基を導入した化合物（**51**、**52**）は MCH1R に対する binding 阻害活性を示すものの、function 阻害活性は改善しなかった。ベンズイミダゾール化合物で良好なプロファイルを示したピラジン基を導入した化合物（**54**）は、MCH1R の binding assay の IC<sub>50</sub>は2.5 nM を示しベンズイミダゾール化合物（**36**）と同等の阻害活性を示したが、function assay の IC<sub>50</sub>は70 nM でありベンズイミダゾールと比べて2.5倍低下した。ビアリール部位の両方のアリール基を複素環へ変換すると logD は大きく低下するものの、MCH1R に対する binding 及び function 阻害活性も低下した（**55**、**56**、**57**）。

イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物の中から MCH1R に対する binding 及び function 阻害活性が高い化合物（**42**、**49**、**53**、**54**）を選び、*in vitro* ラット肝ミクロソームを用いた代謝安定性 [ラット肝ミクロソーム0.25 mg protein/mL 溶液（1 μM）を加え、37℃で30分間インキュベーションした後の残存率] を評価した。末端のアリール部位にピリジン基を持つ化合物（**42**）及び（**49**）のラット肝ミクロソームの残存率はそれぞれ52%及び64%であり、代謝に安定な傾向を示した。一方内部のアリール部位にピリミジニル基及びピラジニル基を持つ化合物（**53**）及び（**54**）の残存率はそれぞれ22%及び35%であり、代謝安定性が低いことが示唆された。

**Table 11** SAR of a variety of biaryl analogs



Compound	Ar <sup>1</sup> -Ar <sup>2</sup>	R <sup>1</sup>	MCH1R binding IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	MCH1R function IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	logD <sup>b</sup>	% remaining of rat microsome@ 1μM
<b>39</b>		H	8.2	ND	5.0	—
<b>40</b>		Me	3.5	1000	5.4	—
<b>41</b>		H	140	ND	3.6	—
<b>42</b>		Me	3.3	26	4.1	52

Compound	Ar <sup>1</sup> -Ar <sup>2</sup>	R <sup>1</sup>	MCH1R binding IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	MCH1R function IC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (nM)	logD <sup>b</sup>	% remaining of rat microsome@ 1μM
<b>43</b>		Me	2.2	100	4.9	—
<b>44</b>		Me	5.4	90	4.0	—
<b>45</b>		Me	4.8	85	4.5	—
<b>46</b>		Me	6.0	122	4.3	—
<b>47</b>		Me	48	94	2.6	—
<b>48</b>		Me	4.0	109	5.5	—
<b>49</b>		Me	4.4	20	4.1	64
<b>50</b>		Me	160	ND	3.9	—
<b>51</b>		Me	2.0	59	4.4	—
<b>52</b>		Me	4.0	94	4.6	—
<b>53</b>		Me	6.8	29	3.7	22
<b>54</b>		Me	2.5	70	4.2	35
<b>55</b>		Me	102	164	2.5	—
<b>56</b>		Me	61	217	3.3	—
<b>57</b>		Me	44	121	3.2	—

<sup>a</sup> Values are means of two experiments. Compounds competed with [<sup>125</sup>I]-MCH for binding at the human MCH1R

<sup>b</sup> logD values were calculated by ACD software.

ND: Not determined.

#### 第4節 イミダゾ [1,2-a] ピリジン化合物の MCH 誘発による摂食抑制試験及び自発的な摂食抑制試験

高い脳内移行性を示す化合物の探索を目指して、2-アミノベンズイミダゾール化合物 (**36**) をリード化合物として新たな骨格変換を探索した結果、イミダゾ [1,2-a] ピリジン化合物が2-アミノベンズイミダゾール化合物と同等の *in vitro* プロファイルを示すことを見出した。イミダゾ [1,2-a] ピリジン化合物 (**40**、**42**、**49**) の代謝安定性、薬物動態及び脳内移行性を評価し *in vivo* 薬効評価試験を行った (Table 12)。

**Table 12** Summary of MCH1R affinity, microsomal stability, pharmacokinetics and brain penetrability of compounds **40**, **42** and **49**

	<b>40</b>	<b>42</b>	<b>49</b>
MCH1R affinity IC <sub>50</sub> (nM)			
Binding assay	3.5	3.3	4.4
Function assay	1000	26	20
logD	5.4	4.1	4.1
Microsomal stability in rats			
%remaining @ 1 µM	80	52	64
PK in rats @ 3 mpk			
F (%)	81	36	58
CL (mL/min/kg)	3.8	8.3	3.3
Vdss (L/kg)	3.1	0.8	1.0
Cmax (µM)	1.3	1.2	2.2
T <sub>1/2</sub> (h)	10	1.5	4.4
Brain penetrability in rats (@ 10 mpk, po, 2h)			
Plasma (µM)	1.4	6.7	5.0
Brain (nmol/g)	1.6	2.0	2.5
CSF (µM)	ND	0.025	0.012
P-gp ratio: (B-toA)/(A-toB)			
MDR1	NT	1.7	1.4
mdr1a	NT	2.5	2.6

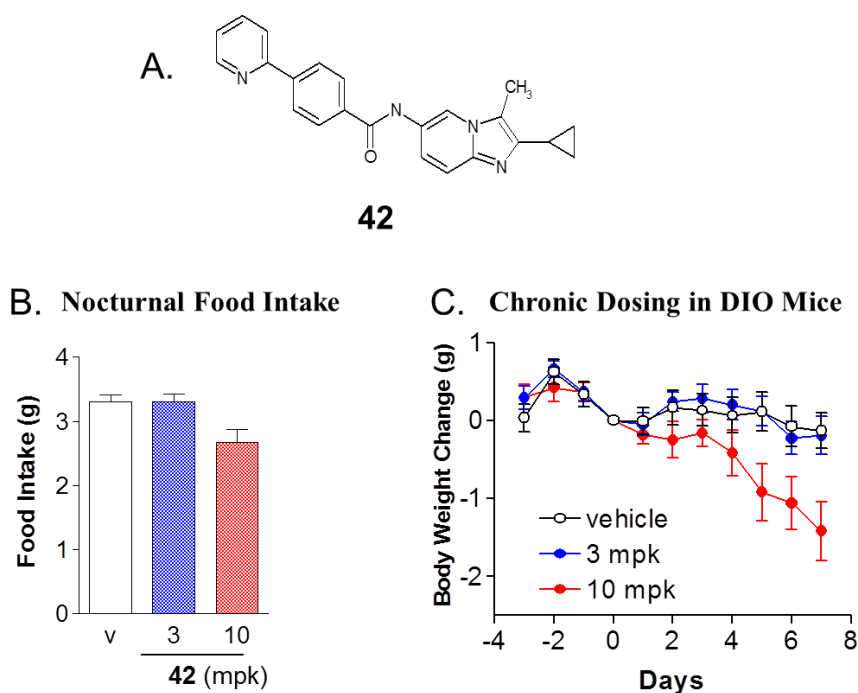
CSF:脳脊髄液

ND: Not detected

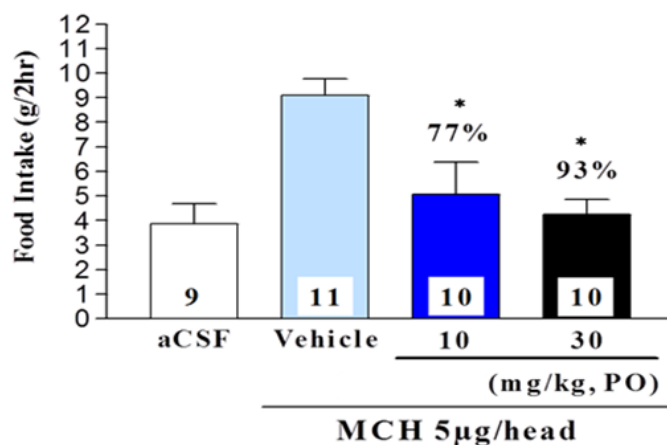
NT: Not tested

化合物 (**40**) のラット薬物動態試験では、高い経口吸収性 (81%) を示し半減期も10時間と長く長時間血中に分布することが示された。P-gp の評価は実施していないが、10 mg/kg の**40**を経口投与した2時間後のラットの血中及び脳内濃度はそれぞれ1.4 µM、1.6 nmol/g であった。高脂肪食

摂取による食事性肥満（diet-induced obesity: DIO）マウスモデル<sup>79)</sup>を用いて、化合物を経口投与した際の自発的な摂食抑制及び体重減少が観察されるか評価した。その結果、30 mg/kg の**40**を経口投与した場合には自発的な摂食抑制及び体重減少は認められなかった。**40**は薬物動態や脳内移行性は良好であるが、MCH1R に対する function 阻害活性が1000 nM と低いため MCH1R を介した薬効が十分に発揮できなかったと考えられる。**49**の MCH1R に対する function 阻害活性は20 nM であり、**40**と比較して MCH1R に対する function 阻害活性が50倍高いため、**40**と同程度の脳内移行性を示した場合には自発的な摂食抑制及び体重減少を示すことが期待できる。**49**は良好な薬物動態及び経口吸収性（58%）を示し、マウスの P-gP の基質ではないことがわかった（マウスの P-gp ratio: 2.6）。10 mg/kg の**49**を経口投与した2時間後のラットの血中及び脳内濃度はそれぞれ5.0  $\mu$ M、2.5 nmol/g であり、**40**と比較して高い脳内移行性を示した。DIO マウスモデルを用いた自発的な摂食抑制試験では、30 mg/kg の**49**を経口投与すると自発的な摂食量の低下傾向が示唆された（data not shown）。**42**は MCH1R に対する良好な binding 及び function 阻害活性を有し、ヒト及びマウスの P-gp の基質ではなく、**49**と同等の *in vitro* プロファイルを示した。ラットの薬物動態では経口吸収性が36%、半減期が1.5時間であり**49**と比較して血中濃度の消失が早いことが示唆されたものの、10 mg/kg の**42**を経口投与した2時間後のラットの血中及び脳内濃度はそれぞれ6.7  $\mu$ M、2.0 nmol/g であり、**49**と同等の血中濃度及び脳内濃度を示した。DIO マウスモデルを用いた自発的な摂食抑制試験では、10 mg/kg の**42**を1日1回経口投与すると夜間の摂食量が減少し、7日間連続投与すると有意差はないものの体重が低下する傾向が観測された（Figure 3）。**42**のラットの脳内濃度は**49**と同程度であるが、脳脊髄液（CSF）中の濃度は0.025  $\mu$ M であり**49**と比較して2倍高い。CSF は脳全体を満たしている水分であり、**42**は**49**と比べて CSF 中に分布しやすく、その結果脳内の MCH1R 発現部位に移行して MCH の作用を抑制し、10 mg/kg でも自発的な摂食抑制を示したと推測される。**42**を用いてラットの MCH 誘発による摂食抑制試験を行った結果、30 mg/kg 及び10 mg/kg の**42**を経口投与すると MCH による摂食量の増加がそれぞれ93%及び77%抑制されることがわかった（Figure 4）。30 mg/kg の**42**を経口投与した際の摂食量はコントロール群と同程度であることから、30 mg/kg で完全に MCH 誘発による摂食を阻害していることが示唆された。



**Figure 3** Anti-obese effect of MCH1R antagonist **42** in established DIO mice. A: test compound; B: nocturnal food intake (g) per day; C: body weight change (g) at chronic dosing in DIO mice.

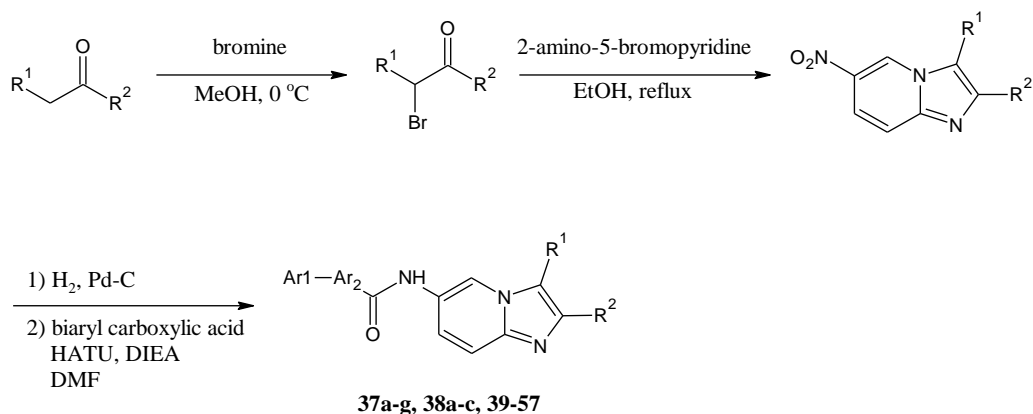


**Figure 4** Effect of compound **42** on MCH-induced feeding response in SD rats. Values are the means±SEM of 9-11 rats groups. \*P<0.05 versus vehicle/ MCH groups.

## 第5節 イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物の合成

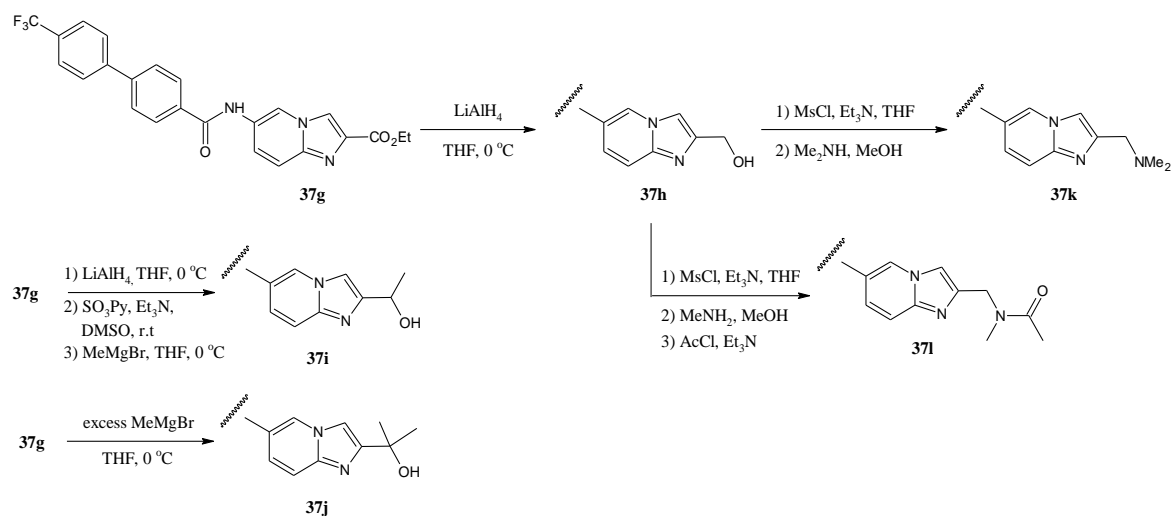
イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物の合成を Scheme 6に示す。ケトンの MeOH 溶液に氷冷下、bromine を加え反応させることによりケトンの  $\alpha$  位をブロモ化した<sup>80)</sup>。2-Amino-5-nitropyridine の EtOH 溶液に  $\alpha$ -ブロモケトン体を加え、加熱することによりイミダゾ [1,2-*a*] ピリジン骨格を合成した<sup>81)</sup>。6位のニトロ基を還元してカルボン酸と縮合させることによりイミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物 (37a-g, 38a-c, 39-57) を合成した。

**Scheme 6** Synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives



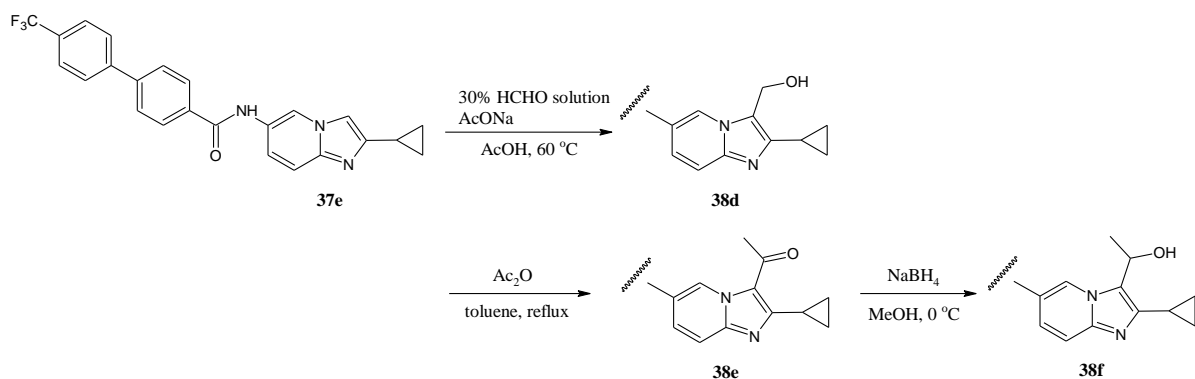
イミダゾ [1,2-*a*] ピリジンの2位の誘導化を Scheme 7に示す。イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物のエステル体 (37g) に過剰の MeMgBr を加え反応させることにより3級アルコール体 (37j) を合成した<sup>82)</sup>。またイミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物のエステル体 (37g) を LiAlH<sub>4</sub>で還元することにより1級アルコール体 (37h) を合成し、水酸基をメシル化した後ジメチルアミンを用いて置換することによりジメチルアミノ体 (37k) を合成した。同様にメチルアミンを用いて置換した後アシル化することによりアセチルアミド体 (37l) を合成した。また37hの1級水酸基を酸化<sup>83)</sup>した後、MeMgBr を加え反応させることにより2級アルコール体 (37i) を合成した。

### Scheme 7 Synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives at 2-position



イミダゾ [1,2-*a*] ピリジンの 3 位の誘導化を Scheme 8 に示す。37e の酢酸溶液にホルマリン溶液を加え加熱することにより、3-ヒドロキシメチル体 (38d) を導入した。また 37e のトルエン溶液に無水酢酸を加え加熱することにより 3-アセチル体 (38e) を合成し<sup>84)</sup>、次にアセチル基を還元することにより 2 級アルコール体 (38f) を合成した。

### Scheme 8 Synthesis of imidazo[1,2-*a*]pyridine derivatives at 3-position





## 第6節 小括及び考察

リピンスキーの rule of five を参考にして 2-アミノベンズイミダゾールに代わる骨格探索を行った結果、MCH1R に対する阻害活性を示すイミダゾ [1,2-*a*] ピリジン骨格を見い出した。イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン骨格は 2-アミノベンズイミダゾールと同程度の塩基性を有しており、骨格上のドナー数 (NH 数) が 1 つ減少している。イミダゾ [1,2-*a*] ピリジンの 2 位の誘導化を行った結果、低級アルキル基が MCH1R に対する阻害活性を示すことを見い出した。3 位の誘導化の結果、置換基の立体障害を大きくするにつれて MCH1R に対する阻害活性は低下し、唯一メチル基が MCH1R に対する阻害活性を示した。2 又は 3 位に低級アルキル基を有するイミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物は脂溶性が高いため、ビアリール部位を変換することにより化合物全体の脂溶性低下を検討した。その結果、ビアリール部位の脂溶性を低下すると 3 位無置換のイミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物では MCH1R に対する阻害活性も低下した。しかしながら、イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物の 3 位にメチル基を置換するとビアリール部位の脂溶性を低下しても MCH1R に対する阻害活性を維持することが明らかになり、脂溶性及び MCH1R に対する function 阻害活性を改善することができた。フェニルピリジン基を持つ化合物 (**42**) は MCH1R に対する良好な binding 及び function 阻害活性を有し、ヒト及びマウスの P-gp の基質ではないことが明らかになった。**42** をラットへ経口投与した結果、良好な薬物動態及び脳内移行性を示した。**42** を用いて *in vivo* 薬効評価試験を実施した結果、ベンズイミダゾール化合物と同様に MCH 誘発による摂食を抑制することが明らかになった。また DIO マウスモデルを用いた自発的な摂食抑制試験では、10 mg/kg の **42** を経口投与した結果、自発的な摂食量の低下が認められ、7 日間連続投与すると体重が低下する傾向が観測された。

## 総括

新たな抗肥満薬の開発を目的として MCH1R 拮抗薬の開発研究を開始した。ハイスループットスクリーニングによるリード化合物の探索を行った結果、ユニークな構造を持つスピロピペリジンウレア化合物が MCH1R に対する阻害活性を示すことを発見した。スピロピペリジンウレア化合物のウレア結合部位、側鎖のフェニル基及びスピロピペリジン骨格の誘導化を行った結果、MCH1R に対する非常に高い阻害活性及び選択性を示す化合物を見い出すことができた。

新たにアミノキノリン化合物をリード化合物として誘導化を行った結果、スピロピペリジン化合物と比較して代謝安定性が大きく改善された2-アミノベンズイミダゾール化合物の誘導化に成功した。2-アミノベンズイミダゾール化合物の誘導化の結果、MCH1R に対する高い阻害活性と良好な代謝安定性、かつ良好な薬物動態及び脳内移行性を示す化合物を見出した。2-アミノベンズイミダゾール化合物を用いたラットの MCH 誘発による摂食抑制試験の結果、MCH による摂食促進を用量依存的に抑制することを明らかにし、MCH1R 拮抗薬の Proof of Concept を実証することに成功した。

リピンスキーの rule of five の概念に基づき、さらに高い脳内移行性を示す化合物の探索を行った結果、MCH1R に対する阻害活性を示すイミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物を見い出すことができた。イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物は2-アミノベンズイミダゾール化合物に比べてドナー数 (NH 数) が1つ少なく、ヒト及びマウスの P-gp の基質ではなく、かつ良好な薬物動態と脳内移行性を示すことを見出した。イミダゾ [1,2-*a*] ピリジン化合物を用いたラットの MCH 誘発による摂食抑制試験の結果、2-アミノベンズイミダゾール化合物と同様に MCH による摂食促進を用量依存的に抑制することを明らかにした。さらに DIO マウスモデルを用いた自発的な摂食抑制試験の結果、自発的な摂食量の低下及び体重減少傾向が認められた。これらの試験結果から、MCH1R 拮抗薬は新たな抗肥満薬として有望であることを明らかにした。

## 実験の部

### Biological method

#### MCH1R binding assay

ヒト MCH1R をコードする cDNA 配列をプラスミドベクター pEF/myc/cyto (インビトロジェン社製) にクローニングし、得られた発現ベクターを宿主細胞 CHO-K1 (アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション) にトランスフェクトした。10%ウシ胎児血清、100 U/mL ペニシリン、100 µg/mL ストレプトマイシン及び1 mg/mL ジェネティシンを D-MEM/F-12培地に加え、得られた CHO-K1細胞を37 °C、5%CO<sub>2</sub>下で培養して MCH1R 発現細胞を得た。この MCH1R を発現させた細胞から調製した膜標品を試験化合物及び50 pM の [<sup>125</sup>I] MCH (NEN 社製) とともに、アッセイ緩衝液 (10 mM 塩化マグネシウム、2 mM エチレンジアミン四酢酸、0.1%バシトラシン及び0.2%ウシ血清アルブミンを含む50 mM Tris 緩衝液、pH7.4) 中で25°C、1時間インキュベーションした後、ガラスフィルターGF/C (ワットマン社製) にて濾過した。ガラスフィルターを10 mM 塩化マグネシウム、2 mM エチレンジアミン四酢酸及び0.04% Tween-20を含む50 mM Tris 緩衝液、pH7.4 にて洗浄後、ガラスフィルター上の放射活性を求めた。非特異的結合は1 µM ヒト MCH 存在下で測定し、特異的 [<sup>125</sup>I] MCH 結合に対する試験化合物の50% 阻害濃度 (IC<sub>50</sub>値) を求めた。

#### MCH1R functional assay

ヒト MCH1R を発現させた CHO 細胞 (チャイニーズハムスター卵巣細胞) を96 well プレート (black-wall, clear-bottom 96-well plate) に 3.0×10<sup>4</sup> cells/well になるように分注し、一晚培養した。10%ウシ胎児血清及び2.5 mM probenecid を含む DMEM/F-12の培養液中に細胞内 Ca<sup>2+</sup>測定試薬 (Fluo-4-AM) を加え、CO<sub>2</sub>インキュベーターで1時間インキュベーションして CHO 細胞内に Fluo-4-AM を取り込ませた。Hanks' Balanced Salt 緩衝液 (20 mM HEPES、0.5%ウシ胎児血清及び2.5 mM probenecid を含む) で洗浄後、試験化合物及び5 nM MCH を加え、細胞内のカルシウムイオン濃度変化を蛍光検出器 FLIPR (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) で測定し、MCH により誘導された蛍光強度の最大変化を決定した。50% 阻害濃度 (IC<sub>50</sub>値) はデータ解析ソフト (Prism version 4.00 software, GraphPad Software, San Diego, CA, USA)を用いて算出した。

#### MCH 誘発による摂食抑制試験

50 mg/kg ペントバルビタールを SD ラットに腹腔内投与して麻酔した後、無菌処理した26G ガイドカニューレを第三脳室に定位固定した。ガイドカニューレは、ブレグマより2.2 mm 後方、頭蓋表面より8.0 mm の座標に定位固定した。歯科用セメントを用いて頭蓋骨に固定し、抗生物質 (50 mg/kg セファメジン) を皮下に投与した。術後少なくとも1週間の回復期間を空けた後に試験を実施した。試験開始の前日に高脂肪食の餌に変更し、十分に摂食させた。試験化合物をラットに経口投与し、その1時間又は2時間後に人工脊髄液に溶解させた MCH (5 µg) をラットの脳室内へ注入して摂食量の変化を測定した。夜間サイクル開始1時間前に MCH を注入した。またコントロール群として MCH を含まない人工脊髄液のみをラットの脳室内へ注入し、同条件下でベースラインの摂食量を測定した。摂食量の統計解析は二元配置分散分析を行い、post-hoc として

Bonferroni test による検定をした。有意水準は5%とした。

### 薬物動態

試験化合物を雄 SD ラットに静注内又は経口単回投与することにより、試験化合物の薬物動態プロファイルを求めた。静注内単回投与では1 mg/kg の試験化合物を PEG400/EtOH/H<sub>2</sub>O=60/10/30に溶解し、経口単回投与では3 mg/kg の試験化合物を0.5%メチルセルロース溶液に懸濁させ、それぞれを SD ラットに投与した。投与後24時間までの規定時間において、血液を採取し試験化合物の血中薬物濃度を測定した。血液を遠心分離機にかけて血漿を採取し、内部標準薬を含むエタノールを加えてタンパク質を除去した後、LC-MS/MS を用いて試験化合物を測定した。

### 化合物合成

試薬及び溶媒は市販品を精製することなく使用した。カラムクロマトグラフィーによる精製、分離には Wakogel C-300 (mesh 45–75  $\mu$ m) を用いた。また薄層クロマトグラフィーには Merck silica gel 60 F254 pre-coated plates を用いた。<sup>1</sup>H NMR スペクトルは JEOL JNM-AL 400 spectrometer 又は Varian Gemini 300 spectrometer を使用した。重クロロホルム溶媒の場合はテトラメチルシラン (TMS,  $\delta$  0.00 ppm)、重メタノール溶媒の場合はメタノール (CD<sub>3</sub>OD,  $\delta$  3.30 ppm)、重ジメチルスルホキシド溶媒の場合はジメチルスルホキシド (DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$  2.49 ppm) を内部標準として測定し ppm 単位で記載した。重量スペクトルは micromass ZQ、micromass Quattro II 又は micromass Q-Tof-2 を用いて electrospray ionization (ESI) で測定した。

## 第1章 スピロピペリジン化合物

### 2-(3,4-Difluorophenyl)-*N*-methyl-2-phenyl-*N*-[3-(spiro-[isobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidin]-1-yl)propyl]acetamide (8)

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ppm): 1.67-2.01 (6H, m), 2.32-2.44 (4H, m), 2.73-2.85 (2H, m), 2.99 (3H $\times$ 1/2, s), 3.00 (3H $\times$ 1/2, s), 3.29-3.57 (2H, m), 5.07 (2H, s), 5.14 (1H $\times$ 1/2, s), 5.35 (1H $\times$ 1/2, s), 6.92-6.96 (1H, m), 7.03-7.14 (3H, m), 7.15-7.37 (8H, m).

ESI-MS Found: *m/z* 491 [M+H]<sup>+</sup>

### 2-(3,4-Difluorophenyl)-*N*-methyl-2-(1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-*N*-[3-(spiro[isobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidin]-1-yl)propyl]acetamide (10)

(1) Methyl 2-(3,4-difluorophenyl)acetate (1.0 g) の CCl<sub>4</sub> (14 mL) 溶液に、NBS (1.05 g) および HBr (3滴) を加えて17時間加熱還流した。室温まで冷却後、反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣を EtOAc にて希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和塩化ナトリウム水溶液にて順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane/EtOAc=40/1) で精製し、methyl 2-bromo-2-(3,4-difluorophenyl)acetate (1.39 g, 98%) を得た。

(2) NaH (60% in oil, 100 mg) の THF (6 mL) 懸濁液に1,2,3-triazole (170 mg) の THF (4.5 mL)

溶液を $-18^{\circ}\text{C}$ にて加えた。30分間同温で攪拌後、上記化合物 (650 mg) の THF (4 mL) 溶液を加えた。室温に昇温後、反応液を17時間攪拌した。反応液に水を加え EtOAc にて抽出し、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層を減圧下で濃縮後、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane/EtOAc=8/1) で精製し、methyl-2-(3,4-difluorophenyl)-2-(1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)acetate (211 mg, 34%) を無色油状物質として得た。上記化合物 (200 mg) の MeOH (20 mL) 溶液に4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (1.0 mL) を加え、 $50^{\circ}\text{C}$ で15時間攪拌した。減圧下で溶媒を除去し、残渣に2 M HCl を加え酸性にした後、得られた混合物を EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で濃縮し2-(3,4-difluorophenyl)-2-(1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)acetic acid (**20c**) (110 mg, 60%) を無色油状物質として得た。

(3) *tert*-Butyl *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-methylcarbamate (12.0 g) 及び  $\text{Et}_3\text{N}$  (11.5 mL) の EtOAc (300 mL) 溶液に氷冷下  $\text{MsCl}$  (5.4 mL) を加えた。2時間攪拌後、反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で濃縮し、3-[(*tert*-butoxycarbonyl)-(methyl)amino]propyl methanesulfonate (14.8 g, 87%) を油状物質として得た。上記化合物 (5.00 g) の DMF (50 mL) 溶液に spiro[isobenzofuran-1(3*H*), 4'-piperidine]hydrochloride (4.22 g)、 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (12.92 g) 及び KI (310 mg) を順次加え、 $80^{\circ}\text{C}$ にて18時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、反応液に水を加え EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH/EtOAc=1/9) で精製して *tert*-butyl *N*-methyl-*N*-[3-(spiro[isobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidin]-1-yl)propyl]-carbamate (4.71 g, 70%) を淡黄色油状物質として得た。上記化合物 (4.58g) の EtOAc (40 mL) 溶液に4 M HCl-EtOAc 溶液 (30 mL) を加え、室温で18時間攪拌した。析出した固体を濾取後、 $\text{Et}_2\text{O}$  で洗浄し *N*-methyl-3-(spiro[isobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidin-1-yl]-1-propanamine dihydrochloride (**19b**) (3.22 g, 76%) を白色粉末として得た。

(4) **19b** (50 mg) の DMF (5 mL) 溶液に1 eq の**20c**、1 eq の HOBt、5 eq の  $\text{NaHCO}_3$  および1 eq の EDCI を順次加え、室温で17時間攪拌した。反応液に水を加え、EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH/EtOAc=1/9) で精製して、表題化合物 (**10**) (27 mg, 37%) を淡黄色油状物質として得た。

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta\text{ppm}$ ): 1.43-3.65 (18H, m), 5.06 (1H, s), 5.07 (1H, s), 6.87 (1H $\times$ 1/2, s), 7.10-7.40 (6H, m), 7.44 (1H $\times$ 1/2, s), 7.67 (1H, d,  $J = 20$  Hz), 7.80 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz).

ESI-MS Found:  $m/z$  482 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^{+}$

## 2-(3,4-Difluorophenyl)-*N*-methyl-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-*N*-[3-(spiro[isobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidin]-1-yl)propyl]acetamide (**11**)

**10** (2) の1,2,3-triazole を1,2,4-triazole に替えて同様の反応を行うことにより表題化合物 (**11**) を得た。

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta\text{ppm}$ ): 1.55-3.66 (18H, m), 5.07 (1H, s), 5.08 (1H, s), 6.45 (1H $\times$ 1/2, s), 7.05

(1H×1/2, s), 7.10-7.42 (6H, m), 7.90 (1/2H, s), 7.94 (1/2H, s), 8.20 (1H, s).

ESI-MS Found:  $m/z$  482  $[M+H]^+$

**2-(3,4-Difluorophenyl)-*N*-methyl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)-*N*-[3-(spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidin]-1-yl)propyl]-acetamide (15) (racemate)**

**(1) 2-(3,4-Difluorophenyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)acetic acid (20b)**

Pyrazole (4.1 g)、触媒量の2,2'-bipyridyl (0.1 eq) の THF (100 mL) 溶液に1 eq の *n*-BuLi 溶液を滴下し−30℃で20分攪拌した。この溶液に1.05 eq の methyl 2-bromo-2-(3,4-difluorophenyl) acetate を加え緩徐に室温に昇温した後、反応液を室温で20時間攪拌した。反応液に水を加え EtOAc にて抽出し、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層を減圧下で濃縮後、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane/EtOAc=8/1) で精製し、methyl 2-(3,4-difluorophenyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)acetate (9.1 g, 60%) を無色油状物質として得た。上記化合物 (500 mg) の MeOH (20 mL) 溶液に4 M 水酸化ナトリウム水溶液 (1.0 mL) を加え、50℃で15時間攪拌した。減圧下で溶媒を除去し、残渣に2 M HCl を加え酸性にした後、得られた混合物を EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で濃縮し2-(3,4-difluorophenyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)acetic acid (**20b**) (345 mg, 73%) を白色固体として得た。

**(2) Spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidine]hydrochloride (21)**

(a) 2,3-Dichloropyridine (107.3 g) 及び CsF (268.2 g) を NMP (270 mL) に懸濁し、150℃にて24時間攪拌した。放冷後、反応混合物を水に注ぎ、セライト濾過し、得られた濾液を Et<sub>2</sub>O にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムにて乾燥後、減圧下濃縮した。得られた油状残渣を蒸留し、3-chloro-2-fluoropyridine (76.14 g, 80%) を無色油状物質として得た。

沸点 : 91–95℃ (15 mmHg)

(b) Diisopropylamine (97 mL) の THF (1200 mL) 溶液に−78℃で *n*-BuLi (2.66 M–Hexane 溶液、239 mL) を加えた。反応液を同温度にて30分間攪拌後、上記化合物 (76.14 g) の THF (300 mL) 溶液を滴下し、1時間攪拌した。反応液にドライアイスを加え、室温まで昇温した後、反応混合物を水に注ぎ、減圧下濃縮した。残渣を Et<sub>2</sub>O にて抽出後、水層に塩酸を加え pH 2 に調整し、EtOAc にて抽出した。有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムにて乾燥後、減圧下濃縮した。残渣を Et<sub>2</sub>O–hexane から再結晶し、3-chloro-2-fluoroisonicotinic acid (55.9 g, 55%) を得た。

(c) 2,2,6,6-Tetramethylpiperidine (8 mL) の THF (100 mL) 溶液に−78℃で *n*-BuLi (1.56 M–Hexane 溶液、39.1 mL) を加えた。同温度にて30分間攪拌後、上記化合物 (2.68 g) を加え、2.5時間攪拌した。−78℃で反応溶液に1-benzyl-4-piperidone (3.68 mL) の THF (55 mL) 溶液を滴下し、20分間攪拌した後、室温まで昇温した。反応混合物に3 M HCl を加え pH 2 に調整し、30分間攪拌後、4 M 水酸化ナトリウム溶液を加え pH 5 に調整し、EtOAc にて抽

出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムにて乾燥後、減圧下濃縮した。得られた油状残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH/クロロホルム=1/50~1/20~1/10) にて精製し、1'-benzylspiro[4-chloro-5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*), 4'-piperidin]-3-one (4.06 g, 77%) を得た。

(d) 上記化合物をトルエン (60 mL) に溶解し、-78℃にて DIBAL (1.0 M-Hexane 溶液、12.6 mL) を加え、30分間攪拌した。室温まで昇温後、反応混合物を飽和塩化アンモニウム水溶液に注ぎ、不溶物を濾過し、得られた濾液を減圧下濃縮した。残渣を EtOAc で抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムにて乾燥した。有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を EtOAc-ヘプタンから再結晶し、1'-benzylspiro-[4-chloro-5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*), 4'-piperidin]-3-ol (2.36 g, 58%) を得た。

(e) 上記化合物 (10.9 g) の CH<sub>3</sub>CN (400 mL) 溶液に、60℃で Et<sub>3</sub>SiH (135 mL) 及び BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (35.6 mL) を加え、30分間攪拌した。放冷後、反応混合物に 3 M HCl を加え pH 7 に調整し、減圧下濃縮後、得られた残渣に 5 M HCl を加え pH 1 に調整した。2時間攪拌後、残渣を Et<sub>2</sub>O にて抽出し、得られた水層に 8 M 水酸化ナトリウム溶液を加え pH 6 に調整後、EtOAc にて抽出した。有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムにて乾燥後、減圧下濃縮した。得られた油状残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane/EtOAc = 2/1) にて精製した後、得られた固体を Et<sub>2</sub>O-Hexane から再結晶し、1'-benzylspiro[4-chloro-5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*), 4'-piperidine] (6.67 g, 64%) を得た。

(f) 上記化合物を MeOH (150 mL) に懸濁し、20% Pd(OH)<sub>2</sub>-C (13 g) を加えた後、水素雰囲気下、室温で 1 時間攪拌した。反応液をセライト濾過後、濾液を減圧下濃縮し、spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*), 4'-piperidine]hydrochloride (**21**) (4.36 g, 89%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, δppm): 2.02-2.07 (2H, m), 2.15-2.26 (2H, m), 3.31-3.46 (4H, m), 5.14 (2H, s), 7.05 (1H, t, *J* = 1.1 Hz), 8.10 (1H, s).

(3) *tert*-Butyl *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-methylcarbamate (12.0 g) 及び Et<sub>3</sub>N (11.5 mL) の EtOAc (300 mL) 溶液に氷冷下 MsCl (5.4 mL) を加えた。2時間攪拌後、反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で濃縮し、3-[(*tert*-butoxycarbonyl)-(methyl)amino]propyl methanesulfonate (14.8 g) を油状物質として得た。上記化合物 (5.0 g) の DMF (50 mL) 溶液に spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*), 4'-piperidine]hydrochloride (**21**) (4.2 g)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (12.9 g) 及び KI (310 mg) を順次加え、80℃にて17時間攪拌した。反応液を室温まで冷却後、反応液に水を加え EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下で濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH/EtOAc = 1/9) で精製して *tert*-butyl *N*-methyl-*N*-[3-(spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*), 4'-piperidine]-1-yl)propyl]-carbamate (4.7 g) を淡黄色油状物質として得た。

上記化合物 (4.58g) の EtOAc (40 mL) 溶液に 4 M HCl-EtOAc 溶液 (30 mL) を加え、室温で

30 分 放 置 し た 。 析 出 し た 固 体 を 濾 取 後 、 Et<sub>2</sub>O で 洗 浄 し *N*-methyl-*N*-[3-(spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidine]-1-yl)-1-propanamine dihydrochloride を得た。これに**20b** を加え**10** (4) と同様の操作を行うことにより表題化合物 (**15**) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 1.71-2.11 (6H, m), 2.19-2.49 (4H, m), 2.72-2.90 (2H, m), 3.00 (3H×1/2, s), 3.03 (3H×1/2, s), 3.26-3.33 (1H×1/2, m), 3.41-3.58 (3H×1/2, m), 5.04 (2H, s), 6.29-6.31 (1H, m), 6.47 (1H×1/2, s), 6.77 (1H, brs), 6.87 (1H×1/2, s), 7.07-7.14 (1H, m), 7.16-7.26 (2H, m), 7.46-7.50 (1H, m), 7.53-7.55 (1H, m), 7.96 (1H×1/2, s), 7.99 (1H×1/2, s).

ESI-MS Found: *m/z* 500 [M+H]<sup>+</sup>

**2-(3,4-Difluorophenyl)-*N*-(2-fluoroethyl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)-*N*-[3-(spiro[5-fluoro-6-azaisobenzofuran-1(3*H*),4'-piperidin]-1-yl)propyl]-acetamide (**18**) (racemate)**

**22c** を用いて**15** (3) と同様の操作を行うことにより、表題化合物 (**18**) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 1.65-2.12 (m, 6H), 2.34-2.52 (m, 4H), 2.72-2.97 (m, 2H), 3.32-3.42 (m, 1H), 3.45-3.67 (m, 2H), 3.70-3.93 (m, 1H), 4.46-4.78 (m, 2H), 5.04 (s, 2H), 6.30 (t, 3/4H, *J* = 2.0 Hz), 6.32 (t, 1/4H, *J* = 2.0 Hz), 6.56 (s, 1/4H), 6.77 (s, 1H), 6.90 (s, 3/4H), 7.02-7.12 (m, 1H), 7.13-7.24 (m, 2H), 7.45 (d, 3/4H, *J* = 2.4 Hz), 7.50 (d, 1/4H, *J* = 2.4 Hz), 7.54 (d, 3/4H, *J* = 2.0 Hz), 7.56 (d, 1/4H, *J* = 2.0 Hz), 7.96 (s, 1/4H), 7.98 (s, 3/4H).

ESI-MS Found: *m/z* 532.3 [M+H]<sup>+</sup>



## 第2章 ベンズイミダゾール化合物

### ***N*-{2-[Isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl]-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propanamide (28a)}**

(1) 2-Chloro-6-nitrobenzimidazole (5.0 g) のジオキサン (5 mL) 懸濁液に *N*-isopropylmethylamine (7.6 eq., 20 mL) を加え、封管中130℃で15時間加熱した。反応液を冷却後、水を加え、EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。有機層を減圧下濃縮後、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、*N*-{2-[isopropyl(methyl)amino]-6-nitro-1*H*-benzimidazole (3.55 g, 60%) を得た。

(2) 上記で得られた *N*-{2-[isopropyl(methyl)amino]-6-nitro-1*H*-benzimidazole (1.0 g) の MeOH (30 mL) 溶液に20% Pd(OH)<sub>2</sub>-C (20 mg) を加え、水素雰囲気下室温で5時間攪拌した。反応液をセライト濾過後、濾液を減圧下濃縮した。得られた6-amino-*N*-{2-isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazole を CHCl<sub>3</sub> (15 mL) に溶解し、Et<sub>3</sub>N (1.8 mL) を加え、更に3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propionic acid (930 mg) を加え、氷冷下 DMC (2 M CHCl<sub>3</sub>溶液、2.6 mL) を滴下した。室温で15時間攪拌後、水を加え、EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。有機層を減圧下濃縮後、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH/EtOAc=1/10) にて精製し、Et<sub>2</sub>O で洗浄して表題化合物 (1.0 g, 58%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.14 (6H, d, *J* = 6.8 Hz), 2.62 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 2.84 (3H, s), 3.00 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 4.42 (1H, m), 6.96 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.01 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.48 (2H, d, *J* = 8.1 Hz), 7.55 (1H, s), 7.64 (2H, d, 8.1Hz), 9.69 (1H, s).

### ***N*-{2-[Cyclopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl]-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propanamide (28d)}**

2-Chloro-6-nitrobenzimidazole (5.0 g) の CH<sub>3</sub>CN (150 mL)、THF (50 mL) 懸濁液に DMAP (300 mg) 及び Boc<sub>2</sub>O (6.0 g) を加え、室温で 18 時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、得られた固体を水、EtOAc で順次洗浄後、減圧乾燥し *tert*-butyl 2-chloro-5-nitro-1*H*-benzimidazole-1-carboxylate 及び *tert*-butyl 2-chloro-6-nitro-1*H*-benzimidazole-1-carboxylate の混合物 (5.5 g, 73%) を得た。この混合物をジオキサン (30 mL) に溶解して cyclopropylmethylamine (2-3 当量) を加え、80℃で 15 時間加熱した。反応液を冷却後、飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、EtOAc にて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した後、有機層を減圧下濃縮することにより 2-cyclopropyl(methyl)amino-6-nitrobenzimidazole を得た。**28a** の (2) と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 0.66 (2H, s), 0.84 (2H, s), 2.54-2.70 (2H, m), 2.96-3.10 (2H, m), 3.00 (3H, s), 6.94-7.10 (2H, m), 7.50 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.64 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.8 (1H, s).

### ***N*-{2-[Cyclopentyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl]-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propanamide (28e)}**

対応するアミンを用いて**28d**と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 1.60-2.00 (8H, m), 2.66 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.98 (3H, s), 3.10 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 4.42-4.58 (1H, m), 6.92-7.02 (1H, m), 7.08-7.16 (1H, m), 7.44 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.50-7.68 (3H, m).

***N*-{2-[Cyclohexyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propanamide (28f)**

対応するアミンを用いて**28d**と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.02-1.18 (1H, m), 1.28-1.42 (2H, m), 1.42-1.58 (2H, m), 1.58-1.70 (3H, m), 1.72-1.86 (2H, m), 2.62 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.88 (3H, s), 3.00 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.92-4.04 (1H, m), 6.92-7.10 (2H, m), 7.48 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.50-7.60 (1H, m), 7.64 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 9.70 (1H, s).

***N*-{2-[Methyl(tetrahydro-3-furanyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propanamide (28g)**

対応するアミンを用いて**28d**と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.87-1.95 (1H, m), 2.12-2.21 (1H, m), 2.63 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 2.99 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.25-3.35 (1H, m), 3.61 (1H, q, *J* = 5.8 Hz), 3.70-3.75 (1H, m), 3.90-3.98 (1H, m), 4.90-4.98 (1H, m), 6.92-7.05 (2H, m), 7.60-7.70 (1H, m), 7.47 (2H, d, *J* = 7.6 Hz), 7.63 (2H, d, *J* = 7.6 Hz), 9.71 (1H, s).

***N*-{2-[(1-Acetyl-3-pyrrolidinyl)(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propanamide (28h)**

対応するアミンを用いて**28d**と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 2.00 (3H, s), 2.10-2.24 (2H, m), 2.62 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.00 (3H, s), 3.04 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.30-3.60 (2H, m), 3.62-3.80 (2H, m), 4.72-4.86 (1H, m), 6.96-7.00 (1H, m), 7.08-7.16 (1H, m), 7.40 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.50-7.62 (3H, m).

***N*-{2-[Methyl(1-methyl-4-piperidinyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propanamide (28i)**

対応するアミンを用いて**28d**と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.94-2.10 (2H, m), 2.20-2.34 (2H, m), 2.70 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.76 (3H, s), 3.00 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.08 (3H, s), 3.08-3.14 (2H, m), 3.50-3.60 (2H, m), 4.32-4.42 (1H, m), 7.34 (2H, s), 7.50 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.64 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.98 (1H, s), 10.22 (1H, s).

***N*-{2-[Ethyl(cyclohexyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]propanamide (28j)**

対応するアミンを用いて**28d**と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.10-1.24 (4H, m), 1.32-1.50 (2H, m), 1.50-1.70 (3H, m), 1.72-1.86 (4H, m), 2.70 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.00 (2H, t, *J* = 7.2 Hz), 3.44-3.60 (2H, m), 3.82-3.96 (1H, m), 7.30 (2H, s), 7.50 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.64 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.98 (1H, s), 10.22 (1H, s).

#### ビアリールカルボン酸の一般的合成法

##### **4-[5-(Trifluoromethyl)pyridin-2-yl]benzoic acid**

DME (50 mL) – 2 M 炭酸ナトリウム水溶液 (5 mL) の混合溶液に 2-bromo-5-(trifluoromethyl)pyridine (400 mg)、4-carboxyphenylboronic acid (350 mg)、Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.1 eq., 200 mg) を加え、100°Cで一昼夜攪拌した。減圧下濃縮後、1 M 水酸化ナトリウム水溶液で抽出し、水層に濃塩酸をゆっくり加えて中和した。析出した固体を濾取し、水、Et<sub>2</sub>O で洗浄し、減圧下乾燥することにより表題化合物 (380 mg, 80%) を白色個体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 8.08 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.22-8.37 (4H, m), 9.07 (1H, s).

##### **6-(4-Fluorophenyl)pyridine-3-carboxylic acid**

6-Chloronicotinic acid (5.0 g) 及び4-fluorophenylboronic acid (1.2eq., 5.3 g) を用いて同様の操作を行うことにより、表題化合物 (5.2 g, 75%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 7.30-7.37 (2H, m), 8.03 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.16-8.22 (2H, m), 8.26 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 9.07 (1H, s).

##### **5-(4-Fluorophenyl)pyridine-2-carboxylic acid**

5-Bromopyridine-2-carboxylic acid (200 mg) 及び4-fluorophenylboronic acid (2eq., 280 mg) を用いて同様の操作を行うことにより、表題化合物 (103 mg, 48%) を白色固体として得た。

ESI-MS Found: *m/z* 218 [M+H]<sup>+</sup>

##### **5-(4-Fluorophenyl)pyrimidine-2-carboxylic acid**

5-Bromopyrimidine-2-carboxylic acid (500 mg) 及び4-fluorophenylboronic acid (2eq., 680 mg) を用いて同様の操作を行うことにより、表題化合物 (380 mg, 71%) を白色固体として得た。

ESI-MS Found: *m/z* 219 [M+H]<sup>+</sup>

ESI-MS Found: *m/z* 217 [M-H]<sup>-</sup>

##### **5-(4-Fluorophenyl)pyrazine-2-carboxylic acid**

(1) 2-Amino-5-bromopyrazine (2.7 g) 及び4-fluorophenylboronic acid (1.5 eq., 3.4 g) を用いて同様の操作を行うことにより、2-amino-5-(4-fluorophenyl)pyrazine (2.6 g, 88%) を白色固体として得た。

(2) 前記 (1) で得た化合物 (2.6 g)、亜硝酸イソペンチルをブロモホルム溶液に加え、100°Cで

撈拌することにより、2-bromo-5-(4-fluorophenyl)pyrazine (1.8 g, 52%) を得た。

(3) 前記 (2) で得た化合物 (1.8 g)、シアン化ナトリウム (0.4 g)、シアン化銅 (0.2 g) を DMF 溶液に加え、150℃で撈拌することにより、5-(4-fluorophenyl)pyrazine-2-carbonitrile (1.0 g, 71%) を得た。

(4) 前記 (3) で得た化合物 (1.0 g) を40%硫酸水溶液に加え、80℃で撈拌することにより、表題化合物 (1.0 g, 91%) を白色固体として得た。

ESI-MS Found:  $m/z$  219  $[M+H]^+$

***N*-{2-[Isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-3-[5-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]propanamide (29)**

対応するカルボン酸を用いて**28a** の (2) と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.24 (6H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.85 (2H, t, *J* = 7.3 Hz), 3.03 (3H, s), 3.18 (2H, t, *J* = 7.3 Hz), 4.33 (1H, m), 7.28 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.36 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.59 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 7.90 (1H, brs), 8.14 (1H, d, *J* = 8.3 Hz), 8.88 (1H, s), 10.30 (1H, s).

***N*-{2-[Isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-5-phenyl-3-pyridinecarboxamide (31)**

対応するカルボン酸を用いて**28a** の (2) と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.17 (6H, d, *J* = 6.4 Hz), 2.88 (3H, s), 4.40-4.49 (1H, m), 7.09 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.23 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.46-7.54 (3H, m), 7.72 (1H, brs), 8.11 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.16 (2H, d, *J* = 7.2 Hz), 8.36 (1H, d, *J* = 7.2 Hz), 9.17 (1H, s), 10.23 (1H, brs), 11.18 (1H, brs).

**6-(4-Fluorophenyl)-*N*-{2-[isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-3-pyridinecarboxamide (32)**

対応するカルボン酸を用いて**28a** の (2) と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 1.08 (6H, d, *J* = 6.4 Hz), 2.81 (3H, s), 4.28-4.46 (1H, m), 6.98-7.09 (4H, m), 7.41 (1H, brs), 7.58 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.89 (2H, dd, *J* = 8.4, 5.6 Hz), 8.21 (1H, brd, *J* = 7.2 Hz), 9.14 (1H, s), 9.48 (1H, brs).

**5-(4-Fluorophenyl)-*N*-{2-[isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-2-pyrimidinecarboxamide (34)**

対応するカルボン酸を用いて**28a** の (2) と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.27 (6H, d, *J* = 6.6 Hz), 3.05 (3H, s), 4.30 (1H, m), 7.38 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.44 (2H, dd, *J* = 8.6, 8.6 Hz), 7.71 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 8.00 (2H, m), 8.19 (1H, s), 9.35 (2H, s), 10.99 (1H, s).

**5-(4-Fluorophenyl)-*N*-{2-[isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-2-pyridinecarboxamide (35)**

対応するカルボン酸を用いて**28a** の (2) と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.26 (6H, d, *J* = 6.6 Hz), 3.07 (3H, s), 4.38 (1H, m), 7.38 (3H, m), 7.73 (1H, brd, *J* = 8.8 Hz), 7.89 (2H, dd, *J* = 8.8, 5.3 Hz), 8.18 (1H, brs), 8.21 (1H, brd, *J* = 8.2 Hz), 8.34 (1H, brd, *J* = 8.2 Hz), 9.00 (1H, brs), 10.82 (1H, s).

**5-(4-Fluorophenyl)-*N*-{2-[isopropyl(methyl)amino]-1*H*-benzimidazol-6-yl}-2-pyrazinecarboxamide hydrochloride (36)**

対応するカルボン酸を用いて**28a** の (2) と同様の操作を行うことにより表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.26 (6H, d, *J* = 6.3 Hz), 3.06 (3H, s), 4.35 (1H, m), 7.38 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.43 (2H, dd, *J* = 8.9, 8.9 Hz), 7.70 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 8.15 (1H, s), 8.33 (2H, dd, *J* = 8.9, 5.6 Hz), 9.31 (1H, s), 9.35 (1H, s), 10.88 (1H, s).

### 第3章 イミダゾピリジン化合物

Imidazo[1,2-*a*]pyridine 骨格の一般的合成法を以下に示す。

#### 2-Isopropyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine hydrobromide

(1) 3-Methyl-2-butanone (7.2 g) の MeOH (70 mL) 溶液に氷冷下、bromine (1 eq., 4.3 mL) を加え、5~10°Cで1時間攪拌した。反応液に水40 mL を加え、室温で一昼夜攪拌した。反応液に1 M  $K_2CO_3$  水溶液を加えて中和した後、 $Et_2O$  で抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層を減圧下濃縮することにより 1-bromo-3-methyl-2-butanone (9.0 g, 65%) の粗生成物を得た。

(2) 2-Amino-5-nitropyridine (5.5 g) と上記の1-bromo-3-methyl-2-butanone (1.4 eq., 9.0 g) の EtOH (50 mL) 溶液を90°Cで10時間攪拌した。析出した固体を濾過し、EtOH で洗浄することにより表題化合物 (4.9 g, 60%) を白色固体として得た。

$^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ppm): 1.33 (6H, d,  $J = 7.2$  Hz), 3.20-3.28 (1H, m), 7.95 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz), 8.42 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz), 10.03 (1H, s).

#### 2-Cyclopropyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine hydrobromide

3-Methyl-2-butanone の代わりに cyclopropyl methyl ketone (19.7g) を用いて上記 (1) と同様の操作を行い、2-amino-5-nitropyridine (16.0 g) を用いて上記 (2) と同様の操作を行うことにより、表題化合物 (20.0 g, 86%) を白色固体として得た。

$^1H$ -NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ppm): 0.94-0.98 (2H, m), 1.10-1.16 (2H, m), 2.20-2.27 (1H, m), 7.85 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz), 8.28 (1H, dd,  $J = 9.6, 2.0$  Hz), 9.95 (1H, s).

#### 2-Cyclopropyl-1-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine

1-Cyclopropyl-1-propanone (25.0 g) を用いて上記 (1) と同様の操作を行い、2-amino-5-nitropyridine (23.0 g) を用いて上記 (2) と同様の操作を行った。得られた個体を EtOAc に懸濁させ、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Hexane/EtOAc=4/1) で精製することにより、表題化合物 (9.4 g, 26%) を黄色結晶として得た。

$^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ppm): 1.01-1.12 (4H, m), 1.95-2.04 (1H, m), 2.58 (3H, s), 7.49 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz), 7.85 (1H, dd,  $J = 9.6, 2.0$  Hz), 8.90 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz).

#### Ethyl 6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate

Ethyl bromopyruvate (1.3 eq., 21.0 g) 及び2-amino-5-nitropyridine (20.0 g) を用いて上記 (2) と同様の操作を行った。得られた個体を EtOAc に懸濁させ、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄することにより、表題化合物 (25.0 g, 74%) を褐色固体として得た。

$^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ ppm): 1.45 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz), 4.48 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz), 7.77 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz), 8.01 (1H, dd,  $J = 9.6, 2.0$  Hz), 8.35 (1H, s), 9.27 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz).

ビアリールカルボン酸の一般的合成法

第2章のベンズイミダゾール化合物で用いたビアリールカルボン酸と同様の合成法により、対応するビアリールカルボン酸を合成した。

#### **4'-(Trifluoromethyl) [1,1'-biphenyl]-4-carboxylic acid**

4-Bromobenzotrifluoride (5.0 g)、4-carboxyphenylboronic acid (1.1 eq., 3.9 g)、を用いて同様の操作を行うことにより表題化合物 (4.2 g, 71%) を白色個体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 7.70 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.72-7.80 (4H, m), 8.16 (2H, d, *J* = 8.0 Hz).

ESI-MS Found: *m/z* 265.0 [M-H]<sup>-</sup>

#### **4-(2-Pyridyl)benzenecarboxylic acid**

4-Carboxyphenylboronic acid (700 mg) 及び2-bromopyridine (1.2 eq., 800 mg) を用いて同様の操作を行うことにより、表題化合物 (340 mg, 40%) を白色固体として得た。

ESI-MS Found: *m/z* 200 [M+H]<sup>+</sup>

ESI-MS Found: *m/z* 198 [M-H]<sup>-</sup>

#### **4-(5-Chloro-2-pyridyl)benzenecarboxylic acid**

4-(Methoxycarbonyl)phenylboronic acid (110 mg) 及び2,5-dichloropyridine (2.2 eq., 200 mg) を用いて同様の操作を行うことにより、methyl 4-(5-chloro-2-pyridyl)benzoate を得た。これを5 M 水酸化ナトリウム水溶液で加水分解することにより、表題化合物 (110 mg, 77%) を白色固体として得た。

ESI-MS Found: *m/z* 234, 236 [M+H]<sup>+</sup>

#### **4-(6-Fluoro-3-pyridyl)benzenecarboxylic acid**

4-Carboxyphenylboronic acid (300 mg) 及び5-bromo-2-fluoropyridine (1 eq., 310 mg) を用いて同様の操作を行うことにより、表題化合物 (250 mg, 64%) を白色固体として得た。

ESI-MS Found: *m/z* 218 [M+H]<sup>+</sup>

#### **N-(2-Isopropylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4'-(trifluoromethyl)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamide (37b)**

1) 2-Isopropyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine hydrobromide (280 mg) の MeOH (20 mL) 溶液に10% Pd-C (30 mg) を加え、反応系中を水素で置換した後、室温で1時間攪拌した。反応液をセライト濾過後、濾液を減圧下濃縮することにより、6-amino-2-isopropylimidazo[1,2-*a*]pyridine hydrobromide の粗生成物 (250 mg) を得た。

2) 6-Amino-2-isopropylimidazo[1,2-*a*]pyridine hydrobromide の粗生成物 (250 mg) を DMF (10 mL) に溶解し、4'-(trifluoromethyl) [1,1'-biphenyl]-4-carboxylic acid (260 mg)、HATU (380 mg)、DIEA (0.6 mL) を加え、室温で2時間攪拌した。反応液に水を加え、EtOAc で抽出し、有機層を水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層を減圧下濃縮後、残渣をシリカ

ゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH=90/1~50/1) で精製することにより、表題化合物 (150 mg) を白色個体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 1.36 (6H, d, *J* = 6.8 Hz), 3.03-3.14 (1H, m), 6.94 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 7.35 (1H, s), 7.47 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 7.66-7.74 (6H, m), 7.97 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.03 (1H, brs), 9.20 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4'-(trifluoromethyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxamide hydrochloride (37e)**

2-Cyclopropyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine hydrobromide 及び 4'-(trifluoromethyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxylic acid を用いて、**37b** と同様の操作を行うことにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 0.92-1.02 (4H, m), 2.00-2.08 (1H, m), 6.91 (1H, dd, *J* = 9.6, 2.0 Hz), 7.37 (1H, s), 7.44 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 7.68-7.73 (6H, m), 7.90 (1H, brs), 7.96 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 9.18 (1H, s).

***N*-[2-(1-Hydroxy-1-methylethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl]-4'-(trifluoromethyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxamide (37j)**

Ethyl 6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate (600 mg) 及び 4'-(trifluoromethyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxylic acid (700 mg) を用いて **37b** と同様の操作を行うことにより、ethyl 6-({4'-(trifluoromethyl)[1,1'-biphenyl]-4-yl}carbonyl)-aminoimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate (360 mg, 31%) を白色固体として得た。前記で得た化合物 (140 mg) の THF (15 mL) 溶液に氷冷攪拌下、3 M MeMgBr の Et<sub>2</sub>O 溶液 (10 eq., 1.0 mL) を加え、同温で2時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、EtOAc で抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層を減圧下濃縮後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH=90/1~50/1) で精製することにより、表題化合物 (30 mg, 22%) を白色個体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.48 (6H, s), 4.98 (1H, s), 7.38 (1H, dd, *J* = 9.6, 2.0 Hz), 7.47 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 7.81 (1H, s), 7.84 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.92 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.98 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.10 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 9.24 (1H, s), 10.38 (1H, brs).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4'-(trifluoromethyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxamide hydrochloride (38a)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 4'-(trifluoromethyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxylic acid を用いて **37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え減圧下濃縮することにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.00-1.07 (2H, m), 1.12-1.18 (2H, m), 2.23-2.33 (1H, m), 2.57 (3H, s), 7.83-7.88 (3H, m), 7.94 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.98 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.18 (3H, d, *J* = 8.0 Hz), 9.30 (1H, s), 11.00 (1H, s).



***N*-[2-Cyclopropyl-3-(hydroxymethyl)imidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl]-4'-(trifluoromethyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxamide (38d)**

**37e** (84 mg) の THF (1 mL) 懸濁液に、酢酸ナトリウム (132 mg)、酢酸 (60  $\mu$ L) 及びホルマリン (500  $\mu$ L) を加え、室温で9時間攪拌した。反応液に水を加え、EtOAc で抽出し、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。有機層を減圧下濃縮後、EtOAc で結晶化することにより表題化合物 (32 mg, 35%) を白色固体として得た。  
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ ppm): 0.89-0.92 (4H, m), 2.10-2.11 (1H, m), 4.84 (2H, d, *J* = 5.1 Hz), 5.15 (1H, t, *J* = 5.1 Hz), 7.41-7.48 (2H, m), 7.85 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.92 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.99 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.11 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 9.13 (1H, s), 10.42 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4-[5-(trifluoromethyl)-2-pyridyl]benzamide hydrochloride (40)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び4-[5-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl]benzoic acid を用いて**37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え、減圧下濃縮することにより、表題化合物を白色固体として得た。  
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ ppm): 1.00-1.08 (2H, m), 1.10-1.18 (2H, m), 2.22-2.32 (1H, m), 2.56 (3H, s), 7.87 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 8.19-8.28 (3H, m), 8.32-8.38 (4H, m), 9.08 (1H, s), 9.30 (1H, s), 11.11 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4-(2-pyridyl)benzamide hydrochloride (42)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び4-(2-pyridyl)benzenecarboxylic acid を用いて**37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え、減圧下濃縮することにより、表題化合物を白色固体として得た。  
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ ppm): 1.03-1.17 (4H, m), 2.22-2.30 (1H, m), 2.56 (3H, s), 7.61 (1H, t, *J* = 6.0 Hz), 7.86 (1H, dd, *J* = 9.6, 0.8 Hz), 8.14-8.30 (7H, m), 8.77 (1H, d, *J* = 5.2 Hz), 9.31 (1H, s), 11.16 (1H, s).

**4-(5-Chloro-2-pyridyl)-*N*-(2-cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)benzamide (43)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び4-(5-chloro-2-pyridyl)benzenecarboxylic acid を用いて**37b** と同様の操作を行うことにより、表題化合物を白色固体として得た。  
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ ppm): 0.88-0.90 (4H, m), 2.05-2.06 (1H, m), 2.50 (3H, s), 7.40 (2H, brs), 8.05-8.15 (4H, m), 8.25 (1H, d, *J* = 6.6 Hz), 8.75 (1H, s), 8.88 (1H, s), 10.42 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4-(5-methyl-2-pyridyl)benzamide (45)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び4-(5-methyl-2-pyridyl)benzenecarboxylic acid を用いて**37b** と同様の操作を行うことにより、表題化合物を白色固体として得た。  
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>,  $\delta$ ppm): 0.88 (4H, m), 2.06 (1H, m), 2.37 (3H, s), 2.48 (3H, s), 7.42 (2H, m), 7.78 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 8.00 (1H, d, *J* = 8.2 Hz), 8.10 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.24 (2H, d, *J* = 8.4 Hz),

8.56 (1H, s), 8.90 (1H, s), 10.39 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4-(5-methoxy-2-pyridyl)benzamide (46)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 4-(5-methoxy-2-pyridyl)benzenecarboxylic acid を用いて **37b** と同様の操作を行うことにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 0.87-0.91 (4H, m), 2.05-2.09 (1H, m), 2.50 (3H, s), 3.90 (3H, s), 7.42 (2H, s), 7.53 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.9 Hz), 8.06 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.09 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.21 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.44 (1H, d, *J* = 3.9 Hz), 8.91 (1H, s), 10.38 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4'-(methylsulfonyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxamide (47)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 4'-(methylsulfonyl)[1,1'-biphenyl]-4-carboxylic acid を用いて **37b** と同様の操作を行うことにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δppm): 0.95-1.06 (4H, m), 1.95-2.03 (1H, m), 2.52 (3H, s), 3.10 (3H, s), 6.99 (1H, dd, *J* = 9.6, 2.0 Hz), 7.45 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 7.68 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.78 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 8.02 (4H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 8.18 (1H, s), 8.96 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4-[6-(trifluoromethyl)-3-pyridyl]benzamide hydrochloride (48)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 4-[6-(trifluoromethyl)-3-pyridyl]benzene carboxylic acid を用いて **37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え、減圧下濃縮することにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.00-1.08 (2H, m), 1.12-1.18 (2H, m), 2.23-2.34 (1H, m), 2.57 (3H, s), 7.86 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 8.01-8.07 (3H, m), 8.18-8.24 (3H, m), 8.46 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz), 9.18 (1H, s), 9.31 (1H, s), 11.05 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-4-(6-fluoro-3-pyridyl)benzamide hydrochloride (49)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 4-(6-fluoro-3-pyridyl)benzenecarboxylic acid を用いて **37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え、減圧下濃縮することにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.00-1.07 (2H, m), 1.12-1.18 (2H, m), 2.23-2.34 (1H, m), 2.57 (3H, s), 7.33 (1H, dd, *J* = 9.6, 2.4 Hz), 7.86 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 7.93 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.14-8.22 (3H, m), 8.35-8.43 (1H, m), 8.66 (1H, s), 9.30 (1H, s), 11.00 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-5-(4-fluorophenyl)-2-pyridinecarboxamide hydrochloride (51)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 5-(4-fluorophenyl)-2-pyridinecarboxylic acid を用いて、**37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え、減圧下濃縮することにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.00-1.07 (2H, m), 1.12-1.18 (2H, m), 2.23-2.34 (1H, m), 2.57 (3H, s), 7.37 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.40 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.84-7.94 (3H, m), 8.23 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.36 (2H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz), 9.03 (1H, s), 9.35 (1H, s), 11.36 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-6-(4-fluorophenyl)nicotinamide hydrochloride (52)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 6-(4-fluorophenyl)nicotinic acid を用いて **37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え、減圧下濃縮することにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.00-1.07 (2H, m), 1.12-1.18 (2H, m), 2.23-2.34 (1H, m), 2.56 (3H, s), 7.34 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.36 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.87 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 8.16 (1H, d, *J* = 8.4 Hz), 8.20-8.28 (3H, m), 8.53 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz), 9.27 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 9.29 (1H, s), 11.25 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-5-(4-fluorophenyl)-2-pyrimidinecarboxamide hydrochloride (53)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 5-(4-fluorophenyl)-2-pyrimidinecarboxylic acid を用いて **37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え、減圧下濃縮することにより、表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.00-1.07 (2H, m), 1.12-1.18 (2H, m), 2.23-2.34 (1H, m), 2.57 (3H, s), 7.40-7.47 (2H, m), 7.86 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 7.97-8.03 (2H, m), 8.31 (1H, dd, *J* = 9.6, 2.0 Hz), 9.33 (1H, s), 9.37 (2H, s), 11.44 (1H, s).

***N*-(2-Cyclopropyl-3-methylimidazo[1,2-*a*]pyridin-6-yl)-5-(4-fluorophenyl)-2-pyrazinecarboxamide hydrochloride (54)**

2-Cyclopropyl-3-methyl-6-nitroimidazo[1,2-*a*]pyridine 及び 5-(4-fluorophenyl)-2-pyrazinecarboxylic acid を用いて **37b** と同様の操作を行った。得られた固体を EtOAc に溶解し、4 M HCl-EtOAc 溶液を加え、減圧下濃縮することにより表題化合物を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δppm): 1.00-1.07 (2H, m), 1.12-1.18 (2H, m), 2.23-2.34 (1H, m), 2.57 (3H, s), 7.41 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.43 (1H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.85 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 8.30-8.38 (3H, m), 9.31 (1H, s), 9.33 (1H, s), 9.37 (1H, s), 11.38 (1H, s).

## Reference

1. 厚生労働省．平成25年人口動態統計月報年計（概数）の概況．結果の概要．  
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai13/dl/kekka.pdf>
2. 日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会編．高血圧治療ガイドライン 2014．日本高血圧学会；2014
3. Imano H, Kitamura A, Sato S, Kiyama M, Ohira T, et al. Trends for blood pressure and its contribution to stroke incidence in the middle aged Japanese population: the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS). *Stroke*. 2009; 40: 1571-7.
4. Fujiyoshi A, Ohkubo T, Miura K, Murakami Y, Nagasawa SY, et al. Observational Cohorts in Japan (EPOCH JAPAN) Research Group. Blood pressure categories and long term risk of cardiovascular disease according to age group in Japanese men and women. *Hypertens Res*. 2012; 35: 947-53.
5. Ikeda A, Iso H, Yamagishi K, Inoue M, Tsugane S. Blood pressure and the risk of stroke, cardiovascular disease, and all cause mortality among Japanese: the JPHC Study. *Am J Hypertens*. 2009; 22: 273-80.
6. Arima H, Tanizaki Y, Yonemoto K, Doi Y, Ninomiya T, et al. Impact of blood pressure levels on different types of stroke: the Hisayama study. *J Hypertens*. 2009; 27: 2437-43.
7. 一般社団法人動脈硬化学会編．動脈硬化性疾患予防ガイドライン2012年版．一般社団法人動脈硬化学会；2012.
8. Soyama Y, Miura K, Morikawa Y, Nishijo M, Nakanishi H, et al. High-density lipoprotein cholesterol and risk of stroke in Japanese men and women: the Oyabe study. *Stroke*. 2003; 34: 863-8.
9. Zhang X, Patel A, Horibe H, Wu Z, Barzi F, et al. Cholesterol, coronary heart disease, and stroke in the Asian Pacific region. *Int J Epidemiol*. 2003; 32: 563-72.
10. 日本糖尿病学会編．科学的根拠に基づく糖尿病診断ガイドライン 2013.
11. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*. 1979; 241: 2035-8.
12. Abbott RD, Donahue RP, MacMahon SW, Reed DM, Yano K. Diabetes and the risk of stroke. The Honolulu Heart Program. *JAMA*. 1987; 257: 949-52.
13. Singer DE, Nathan DM, Anderson KM, Wilson PW, Evans JC. Association of HbA1c with prevalent cardiovascular disease in the original cohort of the Framingham Heart Study. *Diabetes*. 1992; 41: 202-8.
14. 大村隆夫, 上田一雄, 清原裕．一般住民の22年間追跡調査における耐糖能異常と脳卒中発症の関連．久山町研究．*糖尿病* 1993; 36: 17-24.
15. Saito I, Kokubo Y, Yamagishi K, Iso H, Inoue M, et al. Diabetes and the risk of coronary heart disease in the general Japanese population: the Japan Public Health Center-based prospective (JPHC) study. *Atherosclerosis*. 2011; 216: 187-91.

16. Nakamura T, Tsubono Y, Kameda-Takemura K, Funahashi T, Yamashita S, et al. Magnitude of sustained multiple risk factors for ischemic heart disease in Japanese employees: a case-control study. *Jpn Circ J*. 2001; 65: 11-7.
17. Fujioka S, Matsuzawa Y, Tokunaga K, Tarui S. Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism*. 1987; 36: 54-9.
18. Matsuzawa Y, Fujioka S, Tokunaga K, Tarui S. Classification of obesity with respect to morbidity. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1992; 200: 197-201.
19. Takeuchi H, Saitoh S, Takagi S, Ohnishi H, Ohhata J, et al. Metabolic syndrome and cardiac disease in Japanese men: applicability of the concept of metabolic syndrome defined by the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III to Japanese men the Tanno and Sobetsu Study. *Hypertens Res*. 2005; 28: 203-8.
20. Ninomiya T, Kubo M, Doi Y, Yonemoto K, Tanizaki Y, et al. Impact of Metabolic Syndrome on the Development of Cardiovascular Disease in a General Japanese Population. The Hisayama Study. *Stroke*. 2007; 38: 2063-9.
21. Christensen R, Kristensen PK, Bartels EM, Bliddal H, Astrup A. Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet*. 2007; 370: 1706-13.
22. Moreira FA, Crippa JA. The psychiatric side-effects of rimonabant. *Rev Bras Psiquiatr*. 2009; 31(2): 145-53.
23. Jun Goo Kang, Cheol-Young Park. Anti-Obesity Drugs: A Review about Their Effects and Safety. *Diabetes Metab J*. 2012; 36(1): 13-25.
24. Fanghänel G, Cortinas L, Sánchez-Reyes L, Berber A. A clinical trial of the use of sibutramine for the treatment of patients suffering essential obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000; 24(2): 144-50.
25. James WP, Caterson ID, Coutinho W, Finer N, Van Gaal LF, et al. SCOUT Investigators. Effect of sibutramine on cardiovascular outcomes in overweight and obese subjects. *N Engl J Med*. 2010; 363: 905-17.
26. Astrup A. Drug management of obesity: efficacy versus safety. *N Engl J Med*. 2010; 363: 288-90.
27. Walker BR, Ballard IM, Gold JA. A multicentre study comparing mazindol and placebo in obese patients. *J Int Med Res*. 1977; 5(2): 85-90.
28. Inoue S, Egawa M, Satoh S, Saito M, Suzuki H. Clinical and basic aspects of an anorexiant, mazindol, as an antiobesity agent in Japan. *Am J Clin Nutr*. 1992; 55: 199S-202S.
29. Kawauchi H, Kawazoe I, Tsubokawa M, Kishida M, Baker BI. Characterization of melanin-concentrating hormone in chum salmon pituitaries. *Nature* 1983; 305: 321-3.
30. Vaughan JM, Fischer WH, Hoeger C, Rivier J, Vale W. Characterization of melanin-concentrating hormone from rat hypothalamus. *Endocrinology*. 1989; 125(3): 1660-5.
31. MacNeil DJ. The Role of Melanin-Concentrating Hormone and Its Receptors in Energy Homeostasis. *Front Endocrinol*. 2013; 4: 49.
32. Nahon JL, Presse F, Bittencourt JC, Sawchenko PE, Vale W. The rat melanin-concentrating

- hormone messenger ribonucleic acid encodes multiple putative neuropeptides coexpressed in the dorsolateral hypothalamus. *Endocrinology*. 1989; 125(4): 2056-65.
33. Bittencourt JC, Presse F, Arias C, Peto C, Vaughan J. The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: an immuno- and hybridization histochemical characterization. *J Comp Neurol*. 1992; 319(2): 218-45.
  34. Qu D, Ludwig DS, Gammeltoft S, Piper M, Pelleymounter MA, et al. A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. *Nature*. 1996; 380: 243-7.
  35. Ludwig DS, Tritos NA, Mastaitis JW, Kulkarni R, Kokkotou E, et al. Melanin-concentrating hormone overexpression in transgenic mice leads to obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2001; 107(3): 379-86.
  36. Shimada M, Tritos NA, Lowell BB, Flier JS, Maratos-Flier E. Mice lacking melanin-concentrating hormone are hypophagic and lean. *Nature* 1998; 17: 670-4.
  37. Saito Y, Nothacker HP, Wang Z, Lin SH, Leslie F, Civelli O. Molecular characterization of the melanin-concentrating-hormone receptor. *Nature*. 1999; 400: 265-9.
  38. Chambers J, Ames RS, Bergsma D, Muir A, Fitzgerald LR, et al. Melanin-concentrating hormone is the cognate ligand for the orphan G-protein-coupled receptor SLC-1. *Nature*; 400: 261-5.
  39. Hill J, Duckworth M, Murdock P, Rennie G, Sabido-David C, et al. Molecular cloning and functional characterization of MCH2, a novel human MCH receptor. *J Biol Chem*. 2001; 276(23): 20125-9.
  40. Sailer AW, Sano H, Zeng Z, McDonald TP, Pan J, et al. Identification and characterization of a second melanin-concentrating hormone receptor, MCH-2R. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(13): 7564-9.
  41. Tan CP, Sano H, Iwaasa H, Pan J, Sailer AW, et al. Melanin-concentrating hormone receptor subtypes 1 and 2: species-specific gene expression. *Genomics*. 2002; 79(6): 785-92.
  42. Pissios P, Trombly DJ, Tzameli I, Maratos-Flier E. Melanin-concentrating hormone receptor 1 activates extracellular signal-regulated kinase and synergizes with G(s)-coupled pathways. *Endocrinology*. 2003; 144(8): 514-23.
  43. Gomori A, Ishihara A, Ito M, Mashiko S, Matsushita H, et al. Chronic intracerebroventricular infusion of MCH causes obesity in mice. *Melanin-concentrating hormone. Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003; 284(3): E583-8.
  44. Chen Y, Hu C, Hsu CK, Zhang Q, Bi C, et al. Targeted disruption of the melanin-concentrating hormone receptor-1 results in hyperphagia and resistance to diet-induced obesity. *Endocrinology*. 2002; 143: 2469-77.
  45. Marsh DJ, Weingarth DT, Novi DE, Chen HY, Trumbauer ME, et al. Melanin-concentrating hormone 1 receptor-deficient mice are lean, hyperactive, and hyperphagic and have altered metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99(5): 3240-5.
  46. Mashiko S, Ishihara A, Gomori A, Moriya R, Ito M, et al. Antiobesity effect of a

- melanin-concentrating hormone 1 receptor antagonist in diet-induced obese mice. *Endocrinology*. 2005; 146(7): 3080-6.
47. Borowsky B, Durkin MM, Ogozalek K, Marzabadi MR, DeLeon J, et al. Antidepressant, anxiolytic and anorectic effects of a melanin-concentrating hormone-1 receptor antagonist. *Nat Med*. 2002; 8(8): 825-30.
  48. Shearman LP, Camacho RE, Sloan Stribling D, Zhou D, Bednarek MA, et al. Chronic MCH-1 receptor modulation alters appetite, body weight and adiposity in rats. *Eur J Pharmacol*. 2003; 475(1-3): 37-47.
  49. Nahon JL. The melanocortins and melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behavior and energy homeostasis. *C R Biol*. 2006; 329(8): 623-38.
  50. Hervieu GJ. Further insights into the neurobiology of melanin-concentrating hormone in energy and mood balances. *Expert Opin Ther Targets*. 2006; 10(2): 211-29.
  51. Saito Y, Nagasaki H. The melanin-concentrating hormone system and its physiological functions. *Results Probl Cell Differ*. 2008; 46: 159-79.
  52. Murali Dhar TG, Nagarathnam D, Marzabadi MR, Lagu B, Wong WC, et al. Design and synthesis of novel  $\alpha_{1a}$  adrenoceptor-selective antagonists. 2. Approaches to eliminate opioid agonist metabolites via modification of linker and 4-methoxycarbonyl-4-phenylpiperidine moiety. *J Med Chem*. 1999; 42: 4778-93.
  53. Patane MA, DiPardo RM, Newton RC, Price RP, Broten TP, et al. Phenylacetamides as selective  $\alpha_{1a}$  adrenergic receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett*. 2000; 10: 1621-4.
  54. Meanwell NA. Synopsis of some recent tactical application of bioisosteres in drug design. *J Med Chem*. 2011; 54: 2529-91.
  55. Lin JH, Yamazaki M. Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clin Pharmacokinet*. 2003; 42(1): 59-98.
  56. Schinkel AH, Smit JJ, van Tellingen O, Beijnen JH, Wagenaar E, et al. Disruption of the mouse *mdr1a* P-glycoprotein gene leads to a deficiency in the blood-brain barrier and to increased sensitivity to drugs. *Cell*. 1994; 77(4): 491-502.
  57. Yamazaki M, Neway WE, Ohe T, Chen I-W, Rowe JF, et al. In vitro Substrate Identification Studies for P-glycoprotein-Mediated Transport: Species Difference and Predictability of in vivo Results. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001; 296: 723-35.
  58. Ohe T, Sato M, Tanaka S, Fujino N, Hata M, et al. Effect of P-glycoprotein-mediated efflux on cerebrospinal fluid/plasma concentration ratio. *Drug Metab Dispos*. 2003; 31(10): 1251-4.
  59. Mahar Doan KM, Humphreys JE, Webster LO, Wring SA, Shampine LJ, et al. Passive Permeability and P-Glycoprotein-Mediated Efflux Differentiate Central Nervous System (CNS) and Non-CNS Marketed Drugs. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002; 303: 1029-37.
  60. Shibata Y, Takahashi H, Ishii Y. A convenient in vitro screening method for predicting in vivo drug metabolic clearance using isolated hepatocytes suspended in serum. *Drug Metab Dispos*. 2000; 28(12): 1518-23.

61. Shibata Y, Takahashi H, Chiba M, Ishii Y. Prediction of hepatic clearance and availability by cryopreserved human hepatocytes: an application of serum incubation method. *Drug Metab Dispos.* 2002; 30(8): 892-6.
62. F. Ullmann. *Ber Dtsch Chem Ges.* 1903; 36: 2382-6.
63. Chambers MS1, Baker R, Billington DC, Knight AK, Middlemiss DN, Wong EH. Spiropiperidines as high-affinity, selective sigma ligands. *J Med Chem.* 1992; 35(11): 2033-9.
64. Marxer A, Rodriguez HR, McKenna JM, Tsai HM, Spiro piperidines. I. Synthesis of spiro[isobenzofuran-1(3H), 4'-piperidines] and spiro[isobenzofuran-1(3H), 3'-piperidines]. *J Org Chem.* 1975; 40: 1427-33.
65. *Org Synth.* 1981; 60: 14.
66. Moriya M, Sakamoto T, Ishikawa M, Kanatani A, Fukami T. Melanin-concentrating hormone receptor antagonists containing piperidine derivatives as the active ingredient. WO2004069798.
67. Jiang JL, Hoang M, Young JR, Chaung D, Eid R, et al. 2-Aminoquinoline melanin-concentrating hormone (MCH)1R antagonists. *Bioorg Med Chem Lett.* 2006; 16: 5270-4.
68. Jiang JL, Lin P, Hoang M, Chang L, Tan C, et al. 4-Aminoquinoline melanin-concentrating hormone 1-receptor (MCH1R) antagonists. *Bioorg Med Chem Lett.* 2006; 16: 5275-9.
69. Lima LM, Barreiro EJ. Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. *Curr Med Chem.* 2005; 12: 23-49.
70. Park BK, Kitteringham NR, O'Neill PM. Metabolism of fluorine-containing drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001; 41: 443-70.
71. Böhm HJ, Banner D, Bendels S, Kansy M, Kuhn B, et al. Fluorine in medicinal chemistry. *Chembiochem.* 2004; 5: 637-43.
72. Miyaura N, Suzuki A. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chem Rev.* 1995; 95: 2457-83.
73. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001; 46: 3-26.
74. van de Waterbeemd H, Smith DA, Jones BC. Lipophilicity in PK design: methyl, ethyl, futile. *J Comput Aided Mol Des.* 2001; 15: 273-86.
75. Ajay, Bemis GW, Murcko MA. Designing libraries with CNS activity. *J Med Chem.* 1999; 42: 4942-51.
76. Averkin EA, Beard CC, Dvorak CA, Edwards JA, Fried JH, et al. Methyl 5(6)-phenylsulfinyl-2-benzimidazolecarbamate, a new, potent anthelmintic. *J Med Chem.* 1975; 18: 1164-6.
77. Bochis RJ, Dybas RA, Eskola P, Kulsa P, Linn BO, et al. Methyl 6-(phenylsulfinyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carbamate, a potent, new anthelmintic. *J Med Chem.* 1978; 21: 235-7.
78. Abe Y, Kayakiri H, Satoh S, Inoue T, Sawada Y, et al. A novel class of orally active non-peptide



- bradykinin B2 receptor antagonists. 3. Discovering bioisosteres of the imidazo[1,2-*a*] pyridine moiety. *J Med Chem.* 1998; 41: 4062-79.
79. Lin S, Thomas TC, Storlien LH, Huang XF. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 24: 639-46.
  80. *Org Synth.* 1976; 55: 24.
  81. Yamanaka M, Miyake K, Suda S, Ohhara H, Ogawa T. Imidazo[1,2-*a*]pyridines. I. Synthesis and inotropic activity of new 5-imidazo[1,2-*a*]pyridinyl-2(1H)-pyridinone derivatives. *Chem Pharm Bull.* 1991; 39: 1556-67.
  82. Jen T, Frazee JS, Kaiser C, Colella DF, Wardell JR Jr. Adrenergic agents. 6. Synthesis and potential beta-adrenergic agonist activity of some meta-substituted p-hydroxyphenylethanamines related to salbutamol. *J Med Chem.* 1977; 20: 1029-35.
  83. Parikh JR, Doering WE. Sulfur trioxide in the oxidation of alcohols by dimethyl sulfoxide. *J Am Chem Soc.* 1967; 89: 5505-7.
  84. Gudmundsson KS, Johns BA. Synthesis of novel imidazo[1,2-*a*]pyridines with potent activity against herpesviruses. *Org Lett.* 2003; 5: 1369-72.

## 論文目録

- 1) Hiroyuki Kishino, Minoru Moriya, Shunji Sakuraba, Toshihiro Sakamoto, Hidekazu Takahashi, Takao Suzuki, Ryuichi Moriya, Masahiko Ito, Hisashi Iwaasa, Norihiro Takenaga, Akane Ishihara, Akio Kanatani, Nagaaki Sato, Takehiro Fukami. Discovery of imidazo[1,2-a]pyridines as potent MCH1R antagonists. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009; 19: 4589-4593.
- 2) Minoru Moriya, Hiroyuki Kishino, Shunji Sakuraba, Toshihiro Sakamoto, Takuya Suga, Hidekazu Takahashi, Takao Suzuki, Masahiko Ito, Junko Ito, Ryuichi Moriya, Norihiro Takenaga, Hisashi Iwaasa, Akane Ishihara, Akio Kanatani, Takehiro Fukami. Identification of 2-aminobenzimidazoles as potent melanin-concentrating hormone 1-receptor (MCH1R) antagonists. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009; 19: 3568-3572.
- 3) Takao Suzuki, Minoru Moriya, Toshihiro Sakamoto, Takuya Suga, Hiroyuki Kishino, Hidekazu Takahashi, Makoto Ishikawa, Keita Nagai, Yumiko Imai, Etsuko Sekino, Masahiko Ito, Hisashi Iwaasa, Akane Ishihara, Shigeru Tokita, Akio Kanatani, Nagaaki Sato, Takehiro Fukami. Discovery of novel spiro-piperidine derivatives as highly potent and selective melanin-concentrating hormone 1 receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009; 19: 3072-3077.

## 謝辞

本論文の発表機会を与えていただき、多くの有益なご助言及び御指導、御鞭撻を賜りました城西大学大学院薬学研究科 生物有機化学講座教授 杉田 義昭先生に深く感謝いたします。

本論文を作成するにあたり、貴重なご助言を賜りました城西大学大学院薬学研究科 医薬品化学講座教授 坂本 武史先生、薬品作用学講座教授 岡崎 真理先生及び生物有機化学講座助教 高尾 浩一先生に深く感謝いたします。

本論文審査を賜りました城西大学大学院薬学研究科 有機薬化学講座教授 山ノ井 孝先生、生薬学講座教授 白瀧 義明先生及び生体分析化学講座教授 古地 壯光先生に心より感謝いたします。

本研究は旧万有製薬株式会社（現 MSD 株式会社）つくば研究所で長年行われてきた研究結果をまとめたものです。本研究にあたり、多くのご助言及び御指導賜りました旧つくば研究所化学研究所所長 深見 竹広博士に心より感謝いたします。

本研究の化合物合成にあたり、アイディアを出し合い、日々切磋琢磨して化合物合成に励んできた守谷 実博士、桜庭 俊司博士、坂本 俊浩氏、鈴木 隆雄博士、高橋 秀和氏、菅 卓哉氏、石川 誠氏、永井 啓太博士、酒向（旧姓今井）裕美子氏、廣瀬（旧姓関野）江都子氏及び佐藤 長明博士に心より感謝いたします。化合物の生理活性の評価をはじめ、動物を用いた薬理試験及び薬効評価試験に御尽力いただきました金谷 章生博士、石原 あかね博士及び武永 敬博博士に心より感謝いたします。

本論文作成の全般にわたりご助言ご協力いただき、公私にわたり暖かくご支援いただきました角南 聡氏に心より感謝いたします。

最後に、医薬品開発のために共に汗を流し、研究に励んできた旧つくば研究所の皆様に深く感謝の意を表します。

2016年3月

岸野 博之